

Struktur-Wirkungsbeziehungen beim Antibiotikum Moenomycin A

Synthese eines Struktur-Analogons,
bestehend aus N-Acetylglucosamin, einem Galakturonsäure-
Baustein, 3-Phosphoglycerinsäure und
Perhydromoenocinol

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
an der Fakultät für Chemie
der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

Heidemarie Hohgardt
aus Selm

Bochum 1987

Struktur-Wirkungsbeziehungen beim Antibiotikum Moenomycin A

Synthese eines Struktur-Analogons,

bestehend aus N-Acetylglucosamin, einem Galakturonsäure-

Baustein, 3-Phosphoglycerinsäure und Perhydromoenocinol

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

an der Fakultät für Chemie

der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

HEIDEMARIE HOHGARDT

aus Selm

Bochum 1987

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1985 bis Juli 1987 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. P. Welzel an der Fakultät für Chemie der Ruhr-Universität Bochum angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. P. Welzel für die Überlassung des Themas, die intensive Betreuung und die ständige Bereitschaft zur Diskussion.

Herr Dipl. Ing. K. Hobert wies mich in den Gebrauch des HPLC-Gerätes ein und unterstützte mich hilfreich bei allen technischen Problemen. Ihm gilt an dieser Stelle mein Dank.

Herrn Prof. Dr. J. van Heijenoort danke ich für die Durchführung der in-vitro Tests.

Herrn Dr. D. Böttger, Hoechst AG, danke ich für die Überlassung von Flavomycin[®].

Herrn Dr. D. Dietrich und seinen Mitarbeitern danke ich für die Anfertigung der NMR-Spektren. Herrn H. Kühne sei an dieser Stelle für die Erarbeitung der Parameter, die eine Messung der Phosphoglycolipide mit einem vernünftigen Zeitaufwand ermöglichen, gedankt.

Herrn Dr. D. Müller und seinen Mitarbeitern danke ich für die Aufnahme der Massenspektren. Mein Dank gilt insbesondere Herrn Dr. D. Müller für die Aufnahme und die Hilfe bei der Interpretation der FAB-Massenspektren und Herrn Dipl.-Chem. D. Grzelak für die Aufnahme und die Hilfe bei der Interpretation der FIB-Massenspektren.

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich an dieser Stelle danken.

	Seite
1 Einführung	1
1.1 Antimikrobielle Eigenschaften	3
1.2 Wirkungsweise	4
1.3 Struktur-Wirkungsbeziehungen	5
1.4 Problemstellung	9
2 Allgemeiner Teil	
2.1 Retrosynthetische Betrachtung	11
2.1.1 Wahl geeigneter Schutzgruppen	13
2.1.2 Glycosidierungsmethoden	15
2.1.3 Phosphorylierungsmethoden	18
2.2 Geeignet funktionalisierte Bausteine für die Glycosidsynthese	20
2.2.1 Glucosyldonatoren	20
2.2.2 Glycosylakzeptoren	24
2.3 Synthese der (ß1→2)-verknüpften Disaccharide	33
2.4 Reaktionen der Disaccharide	41
2.4.1 Einführung der Carbamoylgruppe	41
2.4.2 Acetylierung der 4-Position in der Galakturon- säure-Einheit	44
2.4.3 Abspaltung der Allylgruppe	48
2.5 Phosphorylierungen nach dem Phosphitester- Verfahren	50
2.5.1 Wahl des Phosphitylierungsmittels	50

2.5.2	Oxidation von Trialkylphosphiten zu Trialkylphosphaten	54
2.5.3	Phosphorylierungsreaktionen	56
2.6	Abspaltung der Schutzgruppen aus dem Phosphorsäurediester <u>68a</u>	66
3	In-vitro Test	71
4	Zusammenfassung	73
5	Experimenteller Teil	
5.1	Verwendete Geräte, Materialien und Methoden	76
5.2	Herstellung der Monosaccharide	80
5.2.1	Herstellung der Glucosyldonatoren	80
5.2.2	Herstellung der Glycosylakzeptoren	82
5.3	Herstellung der β -glycosidisch verknüpften Disaccharide	94
5.3.1	Umsetzung von <u>29a</u>	94
5.3.2	Umsetzung von <u>32a</u>	97
5.3.3	Abspaltung der Isopropylidengruppe	100
5.4	Reaktionen der Disaccharide	100
5.4.1	Einführung der Carbamoylgruppe	100
5.4.2	Acetylierung von <u>36a</u>	104
5.4.3	Abspaltung der Allylgruppe	106
5.5	Phosphorylierungsreaktionen	109
5.5.1	Phosphorsäurediesterbildung mit Disaccharid <u>42</u> und Neopentylalkohol (<u>58</u>) als Alkoholkomponenten	109

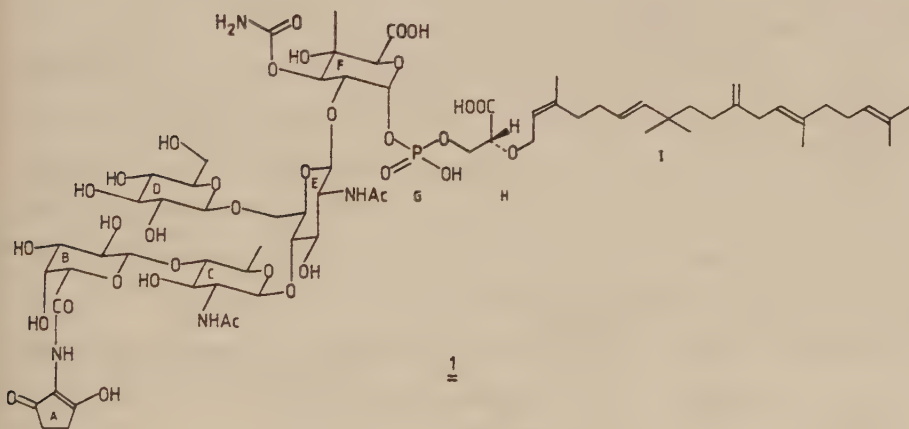
5.5.2	Phosphorsäurediesterbildung mit Disaccharid <u>42</u> bzw. <u>43</u> und dem Glycerinsäurederivat <u>16</u> als Alkoholkomponenten	112
5.6	Esterhydrolyse	120
5.7	Tabellen	123
6	Literaturverzeichnis	135



1 Einführung

Das Antibiotikum Moenomycin A (1, Abb. 1)¹⁾ ist seit 1965 als Hauptbestandteil des Flavomycin[®], eines Stoffwechselproduktes verschiedener Streptomyceten-Arten (u. a. *S. bambergensis*, *S. ghanaensis*), bekannt. Der Komplex besteht aus einer Gruppe strukturell sehr ähnlicher Verbindungen²⁾, von denen neben der Hauptkomponente Moenomycin A (1) auch das Moenomycin C₃ (2, Abb. 2)^{3,4)} rein isoliert werden konnte.

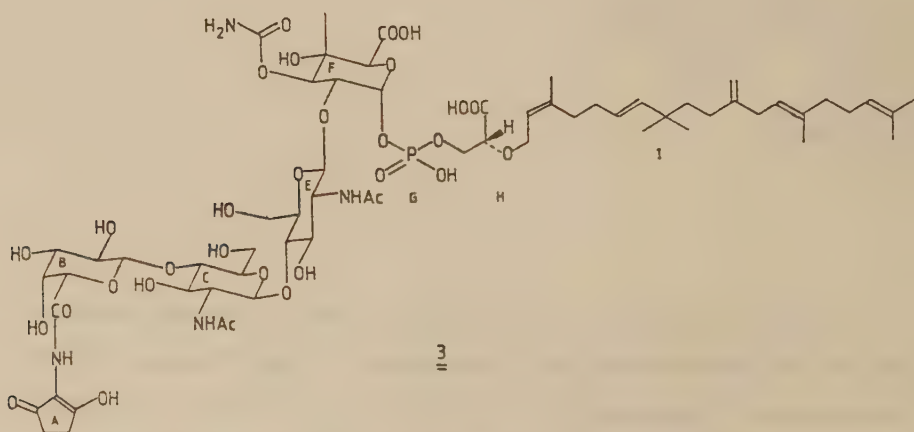
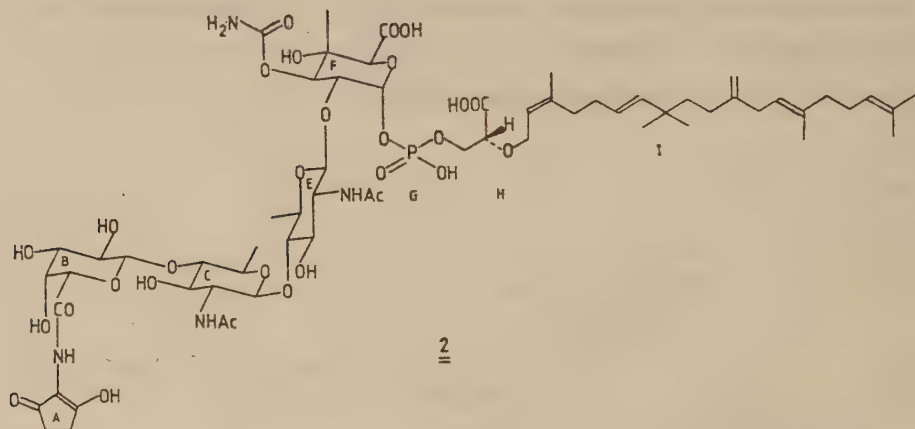
Abb. 1



Die verschiedenen Moenomycine gehören ebenso wie die Diumycine (Macarbomycine), Pholipomycin, die Prasinomycine, Prenomycin, Teichomycin A₁, 11837 R. P., 8036 R. P. (Quebecmycin), 19402 R. P. und Ensanchomycin zur Gruppe der Phosphoglycolipid-Antibiotika²⁾. Diese zeichnen sich durch eine hohe

in-vivo Wirksamkeit gegen gram-positive Bakterien aus. Ihre Wirkung beruht auf einem Eingriff in die Biosynthese des bakteriellen Zellwandpolymers Peptidoglycan⁵⁾.

Abb.2



Die Strukturaufklärung des Moenomycin A (1) erfolgte 1981 von *Welzel et al.* durch chemischen Abbau und spektroskopische Charakterisierung der Fragmente⁶⁾. Die Struktur konnte später durch verbesserte spektroskopische Methoden bestätigt werden⁷⁾. Weiterhin existiert ein Strukturvorschlag für Moenomycin C₃ (2, Abb. 2)^{3,4)}. Von den übrigen Phosphoglycolipid-Antibiotika ist die Struktur von Pholipomycin (3, Abb. 2) aufgeklärt⁸⁾.

1.1 Antimikrobielle Eigenschaften

Phosphoglycolipid-Antibiotika wirken bereits in sehr geringen Konzentrationen bakteriostatisch gegen gram-positive Bakterien; gram-negative Bakterien werden erst bei viel höheren Konzentrationen gehemmt⁹⁾. Diese hohe Aktivität bei proliferierenden gram-positiven Bakterien wird sonst nur noch für verschiedene β -Lactam-Antibiotika^{2,5)} beobachtet.

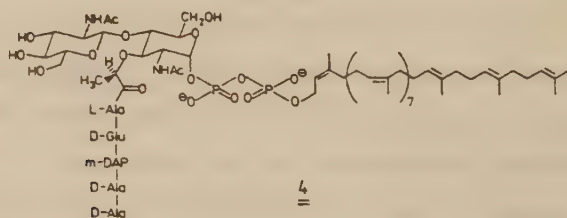
In der Humanmedizin wird Moenomycin nicht angewendet, da es, oral verabreicht, nicht resorbiert wird (Nachweis in Leber und Knochen erst bei zweitausendfacher Überdosierung). Außerdem ist bei intravenöser oder intraperitonealer Applikation des Antibiotikums die biologische Halbwertszeit mit neun bis zehn Tagen zu groß¹⁰⁾. In der Tiermedizin nutzt man jedoch den daraus resultierenden prophylaktischen Effekt. Die geringe Toxizität und bisher kaum beobachtete Resistenzen sowie fehlende Kreuzresistenz mit Penicillinen und Tetracyclinen und der wachstumsfördernde Effekt führten zur Verwendung von Flavomycin[®] als Futtermittelzusatz. Der wachstumsfördernde Effekt ist auf eine Verminderung der Infektion von Zellen mit Plasmiden

zurückzuführen¹¹⁾.

1.2 Wirkungsweise

Phosphoglycolipid-Antibiotika hemmen die Biosynthese des Peptidoglycans, des Gerüstbausteins der bakteriellen Zellwand²⁾. Ein N-Acetylglucosaminyl-N-acetylmuramyl-(pentapeptid)-pyrophosphoryl-undecaprenol (4, Abb. 3) ist die letzte membran-gebundene Vorstufe vor der sogenannten Polymerisation, die aus zwei Schritten besteht: a) einem enzymatischen Transglycosidierungsschritt, bei dem die lineare Glycankette gebildet wird und b) einem enzymatischen Transpeptidierungsschritt, bei dem die Quervernetzung der Peptideinheiten zum Peptidoglycan erfolgt¹²⁾. Es konnte gezeigt werden, daß Moenomycin den Transglycosidierungsschritt in einem zellfreien Systems des Bakteriums *E. coli* hemmt^{13,14)}. Ferner wurde beobachtet, daß Moenomycin sehr wirksam die Autolyse von *E. coli*-Zellen fördert^{5,15)}.

Abb. 3

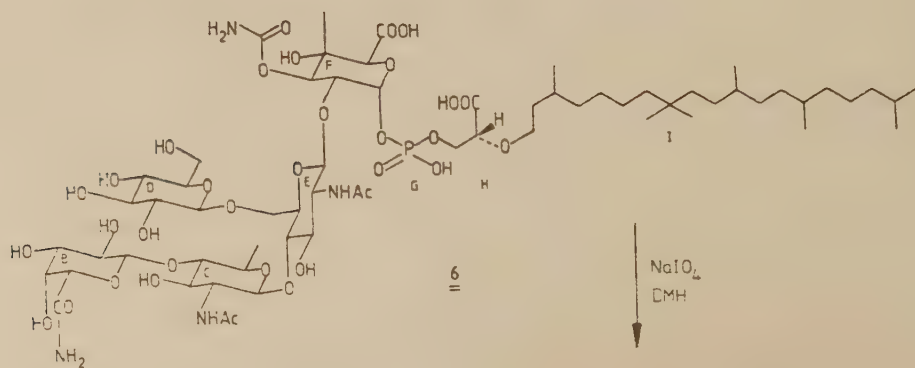
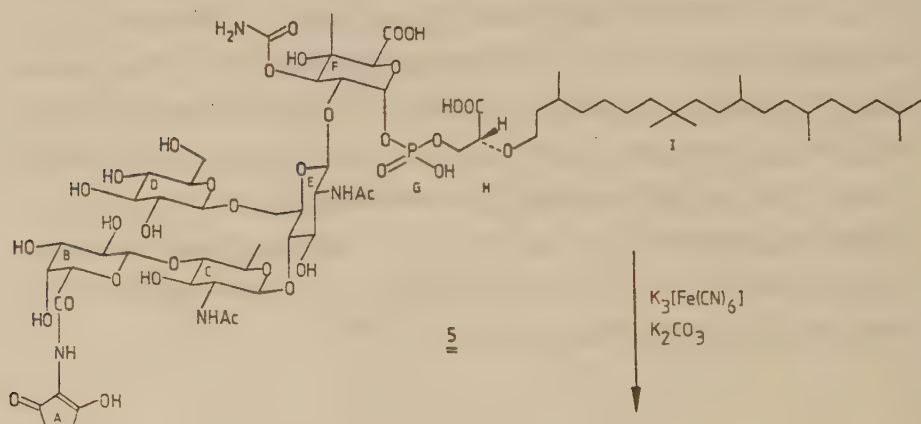
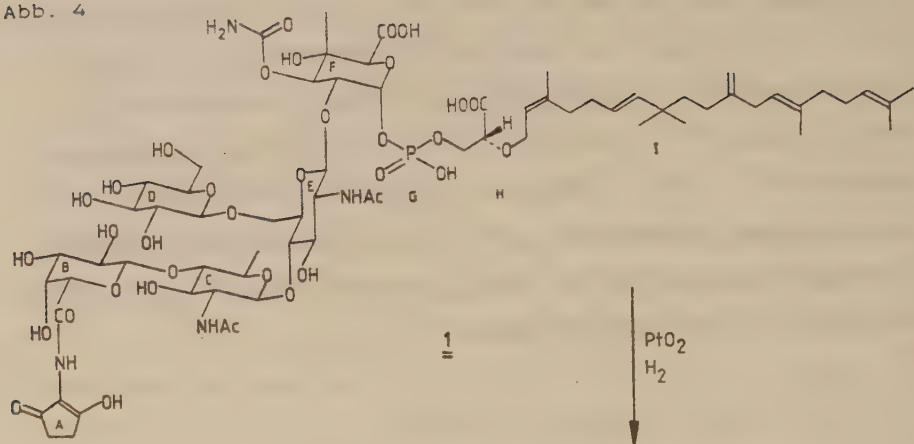


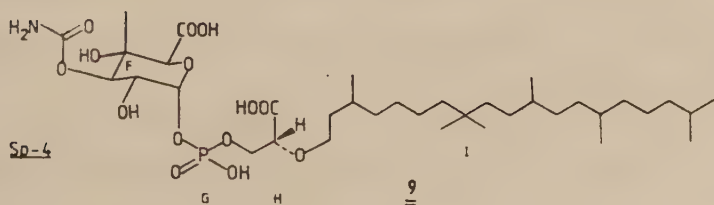
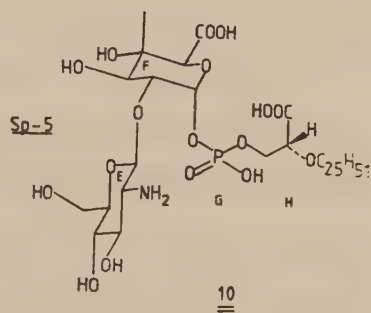
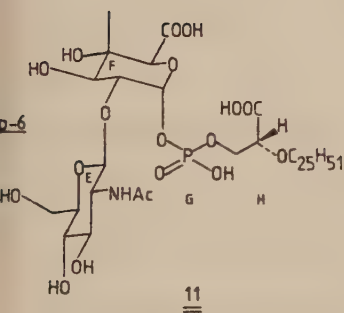
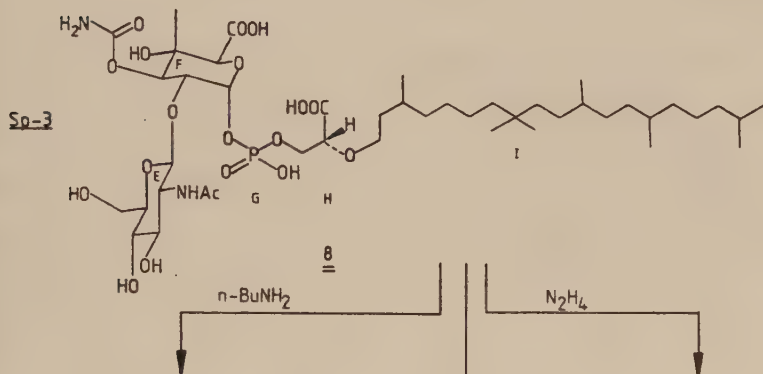
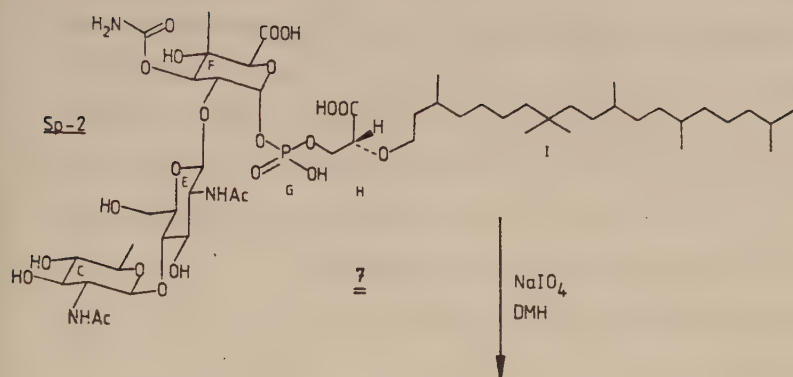
Bisher sind nur wenige strukturell anders gebaute Antibiotika mit wahrscheinlich gleichem Wirkungsmechanismus bekannt, wie zum Beispiel die beiden schwefelhaltigen Polypeptidantibiotika Janiemycin¹⁶⁾, das auch über einen Lipidrest verfügt, und Gardimycin¹⁷⁾. Diese besitzen jedoch nur einen Bruchteil der Aktivität des Moenomycins, und es scheint so zu sein, daß die Phosphoglycolipid-Struktur eine Voraussetzung für die hohe Affinität zur Transglycosylase ist.

1.3 Struktur-Wirkungsbeziehungen

Durch geeignete Reaktionen ist es möglich, Moenomycin A selektiv abzubauen. Nach Hydrierung und oxidativer Abspaltung des Chromophors (A) erhält man durch Periodat-Oxidation und Barry-Abbau zunächst Spaltprodukt-2 (7, Abb. 4) und nach wiederholter Durchführung der Periodat-Spaltung und des Barry-Abbaus die Produkte 8 und 9 (Abb. 4). Die Umsetzung von 8 mit Hydrazinhydrat liefert die Verbindung 10 und Umsetzung mit n-Butylamin die Verbindung 11 (Abb. 4)^{18,19)}.

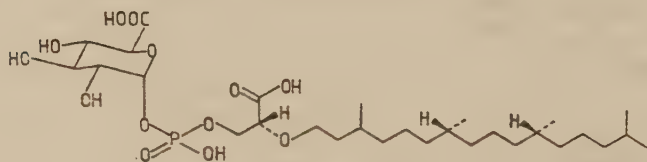
Abb. 4





Um Aussagen über Struktur-Wirkungsbeziehungen machen zu können, wurden sowohl die durch Synthese als auch durch Abbau von Moenomycin erhaltenen Analogstrukturen auf ihre antibiotische Wirksamkeit untersucht. Die bisher synthetisierte Modellsubstanz 12 (Abb. 5)²⁰⁾ hat, ebenso wie das Spaltprodukt-4 (9, Abb. 4), keine antibiotische Wirksamkeit^{18,19,20)}, so daß diese monosaccharidischen Phosphoglycolipide ein zu einfaches Modell darstellen.

Abb. 5



12

Dagegen erwies sich 8 als voll aktiv; für den Erhalt der biologischen Aktivität sind demnach die Einheiten E, F, G, H und I ausreichend. Eine Veresterung der Säurefunktion in Einheit H führt zum vollständigen Verlust der antibiotischen Aktivität⁷⁾. Ferner konnte gezeigt werden, daß auch die Abbau-
produkte 10 und 11 (Abb. 4) keine antibiotische Wirksamkeit besitzen, so daß die Carbamoylgruppe ebenfalls für die antibiotische Aktivität essentiell ist¹⁹⁾.

Damit ist das bisher kleinste wirksame Bruchstück das Spaltprodukt-3 (8, Abb. 4), das eine auffallende Ähnlichkeit

mit dem Undecaprenyl-Disaccharid-Pentapeptid (4, Abb. 3), dem letzten Membranvorläufer des Peptidoglycans, zeigt. Ungeklärt ist noch, ob die Acetamidogruppe in Einheit E, die 4-Methyl- oder die Carbonsäuregruppe in Einheit F für die antibiotische Wirksamkeit essentiell sind.

1.4 Problemstellung

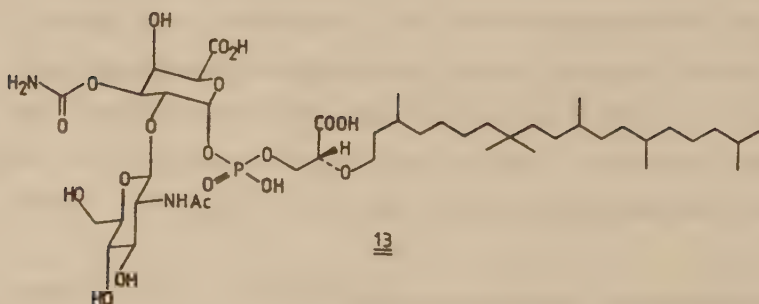
Die Synthese von Strukturanalogen der kleinsten wirksamen Moenomycin-Einheit 8 ist aus verschiedenen Gründen interessant. Von großer Bedeutung sind zum einen weitere Erkenntnisse über Struktur-Wirkungsbeziehungen. Ferner werden Derivate benötigt, mit deren Hilfe, z. B. durch Affinitätschromatographie, das Enzym Transglycosylase isoliert werden kann. Ein wichtiger Syntheseanlaß ergibt sich auch aus der Tatsache, daß Moenomycin wegen ungünstiger Transporteigenschaften nicht in der Humanmedizin angewendet werden kann. Somit erhebt sich zwangsläufig die Frage, ob es möglich ist, biologisch aktive Analoga mit günstigeren Transporteigenschaften im Organismus zu synthetisieren. Es sei daran erinnert, daß die Wirkung der Moenomycin-antibiotika auf dem Eingriff in einen Biosyntheseschritt beruht, der von keinem anderen Antibiotikum blockiert wird und daß bisher kaum Resistenzen gegen Moenomycin beobachtet worden sind.

Diese chemisch, biologisch und medizinisch interessanten Verbindungen, wie die antibiotisch wirksame Moenomycin-Einheit 8, waren bisher nur durch langwierigen Abbau mit schlechten Ausbeuten zugänglich. Weiterhin sind die Möglichkeiten, Verbin-

dung 3 im oben genannten Sinn zu funktionalisieren, gering. Die Ausarbeitung einer effizienten Synthese ist daher wünschenswert. In der Synthese sind zwei Hauptprobleme zu erwarten; erstens die stereoselektive (81→2)-Verknüpfung zweier geschützter Monosaccharide und ferner die diffizile Phosphorylierung der so erhaltenen Disaccharide unter Bildung eines Phosphorsäure-diesters.

Aufgabe dieser Arbeit ist somit die Ausarbeitung einer möglichst effizienten und allgemein anwendbaren Synthese zur Herstellung von Moenomycin-Analoga mit Verbindung 13 (Abb. 6) als speziellem Synthesziel. 13 unterscheidet sich von dem Spaltprodukt-3 (8, Abb. 4) nur in der 4-Position der Einheit F. In Verbindung 13 leitet sich die Einheit F von α -D-Galakturonsäure ab, während die Einheit F in 8 gluco-Konfiguration besitzt.

Abb. 6

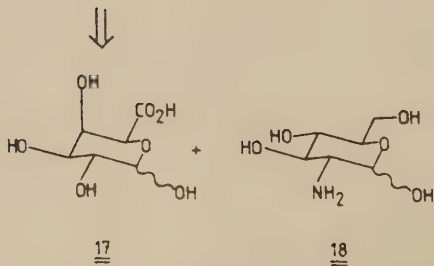
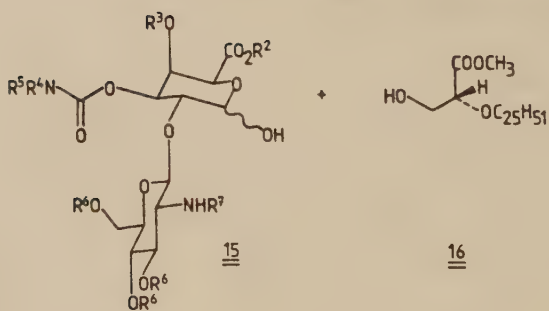
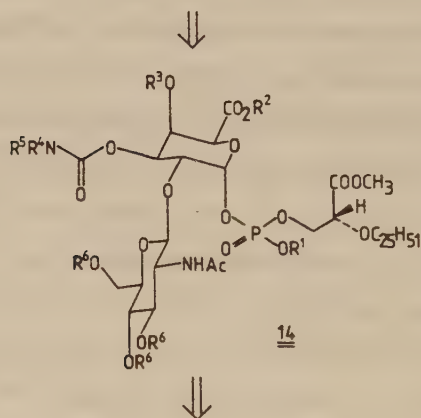
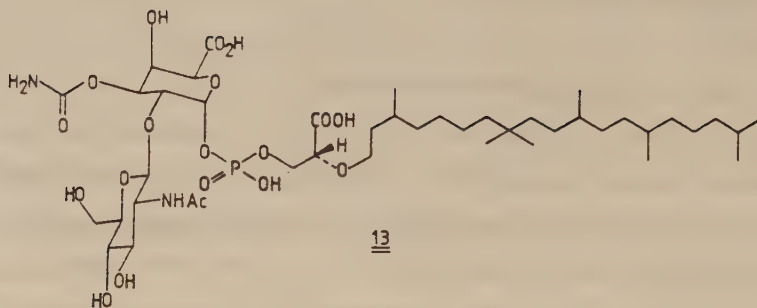


2 Allgemeiner Teil

2.1 Retrosynthetische Betrachtung

Das Zielmolekül 13 (Abb. 7) läßt sich retrosynthetisch über den vollständig geschützten Phosphorsäuretriester 14 mit α -Konfiguration am C-1 der Einheit F in das Disaccharid 15 und in das bekannte Glycerinsäurederivat 16²¹⁾ zerlegen, die über eine Phosphodiesterbindung miteinander verknüpft sind. Die Spaltung der (81 $\rightarrow$ 2)-glycosidischen Bindung des Disaccharids führt zu den Ausgangsprodukten D-Galakturonsäure (17) und 2-Amino-2-desoxy-D-glucose (18). Die retrosynthetische Betrachtung zeigt die drei wichtigen Gesichtspunkte dieser Synthese:

- a) Wahl geeigneter, selektiver Schutzgruppen
- b) Herstellung des geschützten (81 $\rightarrow$ 2)-verknüpften Disaccharids aus D-Galakturonsäure und 2-Amino-2-desoxy-D-glucose
- c) α -Verknüpfung des Disaccharids mit 16 durch ein geeignetes Phosphorylierungsverfahren.



2.1.1 Wahl geeigneter Schutzgruppen

Zur Vorbereitung der Synthese von 13 gehört die Auswahl der Schutzgruppen. Man unterscheidet allgemein zwischen temporären (Blockierung einer Hydroxylfunktion nur für einen bestimmten Zeitraum der Synthese) und permanenten Schutzgruppen (Blockierung einer Hydroxylfunktion für den gesamten Syntheseweg). Das Ziel ist, mit wenig Schutzgruppen eine möglichst effiziente Synthese durchzuführen.

Für den aus D-Galakturonsäure (17) herzustellenden Glycosylakzeptor sieht die Schutzgruppenchemie folgendermaßen aus:

- Veresterung der Säurefunktion.
- Für die anomere Hydroxylgruppe wird eine selektiv abspaltbare Schutzgruppe benötigt, um nach der Disaccharidsynthese diese Position phosphorylieren zu können. Die Allylschutzgruppe wurde als geeignet zur temporären Blockierung ausgewählt. Sie bietet eine Vielzahl von Möglichkeiten, durch Etherspaltung entfernt zu werden. Die zur Abspaltung der Allylschutzgruppe verwendeten Verfahren sind meist zweistufig. Hierbei wird die Allylgruppe zunächst zum 1-Propenylether isomerisiert und anschließend die säurelabile Propenylgruppe abgespalten. Zum Schutz der Glycosidbindung, der Estergruppe und zur Verhinderung einer Wasser-Eliminierung in Nachbarstellung zur Estergruppierung ist die Deallylierung unter möglichst neutralen und nicht oxidierenden Bedingungen durchzuführen.

Zur Umlagerung und Abspaltung der Allylschutzgruppe stehen

viele Methoden zur Auswahl²²⁾. Die Bildung des 1-Propenylethers erfolgt durch starke Basen wie Kalium-tert-butanolat in Dimethylsulfoxid. Die labile 1-Propenylgruppe wird durch saure Hydrolyse, wie zum Beispiel mit methanolischer Salzsäure, durch Oxidation mit alkalischer Kaliumpermanganatlösung sowie durch Ozonolyse abgespalten. Andere Methoden zur Abspaltung der Allylgruppe sind die Reaktion mit Selen dioxide in Essigsäure, die Addition von Diethylazodicarboxylat an den Allylether und Hydrolyse des gebildeten Vinylethers wie oben beschrieben, durch Reaktion mit Organometallreagentien oder mit Natrium in flüssigem Ammoniak. Diese Verfahren sind jedoch wahrscheinlich im vorliegenden Fall nicht geeignet.

Die mildeste Methode besteht hier in der Umlagerung des Allylethers zum 1-Propenylether mit einem Übergangsmetallkatalysator und anschließender Abspaltung des Propenylethers mit Quecksilber-(II)-oxid/Quecksilber-(II)-chlorid²²⁾. Verwendet werden können zum Beispiel Rhodium²²⁾ und Iridiumkatalysatoren²³⁾. Palladium-(0)-Komplexe wie Tetrakis(triphenylphosphin)palladium-(0) reagieren mit Allylethern sehr langsam, eignen sich aber gut zur Spaltung von Allylethern²⁴⁾.

Neben diesen zweistufigen Reaktionen sind auch Eintopfverfahren bekannt, die vermutlich ebenfalls über eine Propenylzwischenstufe verlaufen: Palladium auf Kohlenstoff mit starken Säuren bei erhöhter Temperatur²²⁾ und Palladiumdichlorid in Essigsäure/Wasser/Natriumacetat bei Raumtemperatur²⁵⁾.

- Falls für die Disaccharidsynthese erforderlich, kann die

Hydroxylgruppe in 3-Position durch ein 3,4-O-Acetal geschützt werden.

- Die 4-Hydroxylgruppe sollte zu unreaktiv sein, um bei der Disaccharidsynthese zu stören. Sollten jedoch Schwierigkeiten bei der Phosphorylierung auftreten, würde sich eine Acetylierung dieser Hydroxylgruppe anbieten. Die Acetylgruppe kann dann im letzten Syntheseschritt, der Esterhydrolyse, mit abgespalten werden.

Für den aus 2-Amino-2-desoxy-D-glucose (18) herzustellen den Glycosyldonor sollen die Hydroxylgruppen für den gesamten Syntheseweg geschützt werden. Hierfür ist die Acetylierung geeignet; bei der Esterhydrolyse zur Deblockierung der Säuregruppen im letzten Reaktionsschritt werden auch die O-Acetylerester gespalten.

2.1.2 Glycosidierungsmethoden

Für die Synthese komplexer Oligosaccharide stehen heute mehrere Methoden zur Auswahl²⁶⁾. Die klassische Koenigs-Knorr-Methode und ihre Varianten zeigen inzwischen ein relativ übersichtliches Bild bezüglich Reaktivität und Stereoselektivität der Glycosidierungsreaktionen^{26a,b)}.

Der Verlauf derartiger Oligosaccharidsynthesen wird im wesentlichen durch die Reaktivität des Halogenids, des Katalysators und des Glycosylakzeptors beeinflusst. Das Lösungsmittel sollte wenig polar sein. Die Reaktivität des Halogenids ist in

erster Linie durch Variation der Substituenten an den Hydroxylgruppen zu verändern. Benzylverbindungen sind zum Beispiel reaktiver als Acetyl- oder Benzoylderivate. Trichloracetylgruppen verringern, Desoxygruppierungen erhöhen jeweils in hohem Maße die Reaktivität des Halogenids. Außerdem sind die weniger stabilen Bromide natürlich reaktiver als die Chloride. Der wichtigste Parameter zur Beeinflussung des Reaktionsverlaufs ist der Katalysator. Milde Katalysatoren sind Tetraethylammoniumhalogenide, wirksamer sind Quecksilberverbindungen und noch stärker katalysieren Silberperchlorate und -triflate. Die Reaktivität des Glycosylakzeptors nimmt in der Reihenfolge $\text{CH}_3\text{OH} \gg \text{RCH}_2\text{OH} \gg \text{R}_2\text{CHOH}$ ab und ist meist für ein gegebenes Glycosidierungsproblem am geringsten beeinflussbar. Die Stereoselektivität der Verknüpfung wird durch Nachbargruppenbeteiligung, in-situ-Anomerisierung von α -Glycosylhalogeniden oder heterogene Katalyse erreicht.

Ein weiteres Kupplungsreagenz für die β -Glycosid-Synthese ist das Trimethylsilyltrifluormethansulfonat. Hierbei ist es nicht notwendig, das Halogenid zu verwenden; es reagiert vielmehr schon das β -1-O-Acetyl-Derivat^{26a)}.

Eine Alternative zu den bisher geschilderten Oligosaccharidsynthesen stellt das Trichloracetimidat-Verfahren von Schmidt dar^{26c)}. Auch hier ist es möglich, je nach Reaktionsbedingungen (Ausnutzung kinetischer und thermodynamischer stereoelektronischer Effekte bei der stereokontrollierten Bildung der stabilen O-Glycosyl-trichloracetimide) α - oder β -verknüpfte Oligosaccharide herzustellen. Als Katalysatoren dienen Lewis-Säuren wie zum Beispiel Bortrifluorid-Diethyletherat.

Zur Synthese eines (81 $\rightarrow$ 2)-verknüpften Disaccharids vom Typ

15 kann als Glycosyldonor ein 2-Acetamido-2-desoxy-derivat eingesetzt werden. Damit kommt als weitere Möglichkeit zur Oligosaccharidsynthese das bekannte Oxazolin-Verfahren^{26a)} in Betracht. Hierbei wird ein Oxazolin mit dem Alkohol unter p-Toluolsulfonsäure-Katalyse umgesetzt. Ein 1985 erschienener Artikel von *Kiso und Anderson* beschreibt die Bildung von geschützten Glycosiden und Disacchariden der 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose durch Eisen-(III)-chlorid katalysierte Kopp-
lung²⁷⁾.

Ebenfalls Nachbargruppenaktivität hat die sterisch an-
spruchsvolle Phthalimidogruppe an C-2. Beim Phthalimid-Verfah-
ren^{26a)} dient Silbertriflat in Gegenwart von s-Collidin als
Katalysator. Die Abspaltung der Phthalimidogruppe erfolgt mit
Hydrazin bei höheren Temperaturen²⁸⁾ oder mit n-Butylamin in
Methanol²⁹⁾.

Auch 2-Azido-pyranosylhalogenide können zu β -Glycosiden
umgesetzt werden. Hier muß der reaktive Silbersilikat-Katalysa-
tor verwendet werden, damit die Reaktion in heterogener Phase
abläuft^{26a)}. Die Azidogruppe kann reduktiv in die Aminogruppe
umgewandelt werden³⁰⁾.

Nach dieser kurzen Übersicht stehen als Glycosyldonatoren
die 1-Halogen-, Oxazolin-, 2-Phthalimido- und 2-Azido-Derivate
zur Auswahl. Die Phthalimido-Derivate scheiden aus, da eine
Abspaltung dieser Gruppe mit Hydrazin oder n-Butylamin auch zum
Verlust der essentiellen Carbamoylgruppe führen würde³⁾. Inwie-
weit das System Natriumborhydrid/2-Propanol/Essigsäure³¹⁾ hier-
für geeignet ist, ist bisher nicht bekannt. Die Herstellung der
2-Azido-glucosyldonatoren könnte sich aufwendig und schwieriger
gestalten, so daß diese Methode zunächst zurückgestellt wurde.

Für die Synthese des (β1→2)-verknüpften Disaccharids vom Typ 15 sollten daher das Oxazolin-Verfahren und die Koenigs-Knorr-Methode angewendet werden. Als weitere Möglichkeit kommt die Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-katalysierte Reaktion in Betracht.

2.1.3 Phosphorylierungsmethoden

Die Fortschritte in der Molekularbiologie und das steigende Interesse an biochemisch interessanten Phosphaten hat in den letzten Jahren zur Entwicklung neuer Phosphorylierungsmethoden geführt. Für den chemischen Aufbau von Oligonucleotiden stehen heute drei Methoden³²⁾ mit einer Reihe verschiedener Phosphorylierungsreagenzien zur Verfügung:

1. Phosphodiester-Verfahren
2. Phosphotriester-Verfahren
3. Phosphitester-Verfahren.

Die Verfahren sind sowohl in homogener als auch an fester Phase durchführbar. Beim klassischen Phosphitester-Verfahren wird mit Hilfe eines Dichlorphosphits ein Trialkylphosphit hergestellt und dieses anschließend zum Phosphat oxidiert. In Weiterentwicklungen der Phosphitester-Methode werden Phosphorditriazole bzw. -tetrazolide³³⁾ und Phosphoramidite³⁴⁾ bzw. -diamidite³⁵⁾ verwendet. Neuere Varianten benutzen Phosphorthioite³⁶⁾ oder H-Phosphonate³⁷⁾.

Im Gegensatz zur Phosphorylierung in der Nucleotidchemie und der Umsetzung von nicht anomeren Hydroxylgruppen anderer Saccharide nach dem Phosphotriester-Verfahren³⁸⁾ treten bei der

viel weniger fortgeschrittenen Synthese von Glycosylphosphaten durch Phosphorylierung der anomeren Alkoholfunktion Probleme auf. Die bisher bekannten Verfahren sind auf die speziellen Probleme weniger Saccharide beschränkt und bieten somit keine allgemein anwendbaren Möglichkeiten.

In den meisten beschriebenen Synthesen muß die 1-Position des Glycosylderivates zunächst substituiert werden, bevor sie einer Phosphorylierung zugänglich ist. So werden Phosphorsäuremono- und -diester im allgemeinen mit einem 1,2-Orthoester³⁹⁾, einem 1,2-Oxazolin⁴⁰⁾ oder einem Trichloracetimidat⁴¹⁾ umgesetzt. 1-O-Thallium⁴²⁾ und 1-O-Lithiumsalze⁴³⁾ reagieren mit Dialkyl- oder Diarylchlorophosphaten. Weitere Möglichkeiten bieten die Reaktion eines Halogenids mit einem Phosphatsalz (Silberphosphat^{44a)}, Ammoniumphosphat^{44b)} oder Trialkylstannylphosphat^{44c)} und die Reaktion eines Acetats mit wasserfreier Phosphorsäure⁴⁵⁾.

Zu den wenigen Reagentien, die eine direkte Phosphorylierung der freien anomeren Alkoholfunktion erlauben, gehören das o-Phenylenphosphorochloridat⁴⁶⁾ und die cyclischen Enolphosphate⁴⁷⁾.

Mit Ausnahme der Trichloracetimide und der cyclischen Enolphosphate liefern die Phosphorylierungen Phosphorsäuremonoester, die nach dem Phosphodiester-Verfahren zu den Phosphorsäurediestern umgesetzt werden müssen. Auch hierfür sind Beispiele bekannt⁴⁸⁾.

Die Konfiguration des entstehenden Glycosylphosphates ist meist durch die Wahl des Glycosylderivates festgelegt.

In jüngster Zeit wurden zur Phosphorylierung der anomeren Hydroxylgruppe von Sacchariden zunehmend die neuen Methoden aus

der Oligonucleotidchemie übernommen. Neben dem Phosphitester-Verfahren⁴⁹⁾ fanden auch die Phosphoramidit-⁵⁰⁾ und die H-Phosphonat-Variante⁵¹⁾ Verwendung.

Für die Darstellung eines Phosphorsäurediesters durch die Phosphorylierung der anomeren Hydroxylfunktion eines Disaccharids vom Typ 15 eignen sich nur milde Methoden. Von den wenigen Phosphorylierungsmitteln, die diese Bedingung erfüllen, sollte hier eines eingesetzt werden, das die Anwendung des Phosphitesterverfahrens ermöglicht.

2.2 Geeignet funktionalisierte Bausteine für die Glycosid-synthese

2.2.1 Glucosyldonatoren

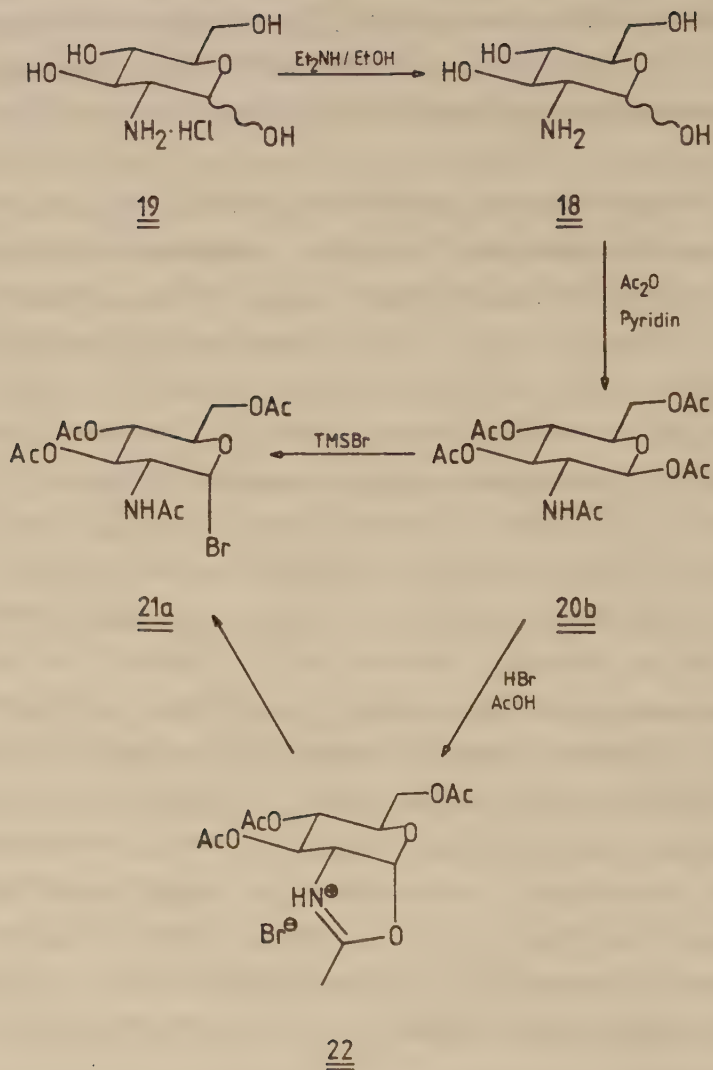
Für eine Glycosidierung nach Varianten der Koenigs-Knorr-Methode sollte der Glucosyldonor ein Halogenid sein. Mit den vorgesehenen Acetylschutzgruppen ist also das 2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (21a, Abb. 8) zu synthetisieren.

Zunächst wurde das freie D-Glucosamin (18) in 96proz. Ausbeute durch Suspendieren des Hydrochlorids 19 in einem Diethylamin/Ethanol-Gemisch hergestellt und anschließend in wenig Ethanol auf 40°C erwärmt⁵²⁾. Entgegen den Angaben in der Literatur⁵²⁾ wurde die 2-Amino-2-desoxy- β -D-glucopyranose(18) nicht rein, sondern im Gemisch mit dem α -Anomeren in einem Verhältnis von α : β = 1:2 erhalten. Zur Gewinnung der 2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranose (20b)

wurde 18 nach *Westphal und Holzmann* mit Essigsäureanhydrid/Pyridin behandelt (Ausb. 82 %) ⁵²⁾. Mit dieser Verbindung 20b (Abb. 8) stand auch ein Glucosyldonor für die Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-katalysierte Glycosidierung zur Verfügung.

Nach Literaturangaben sollte die Umsetzung von 20b mit Bromwasserstoff/Acetylbromid ⁵³⁾ oder Bromwasserstoff/Eisessig ⁵⁴⁾ zur Herstellung des Bromids 21a zu keinem zufriedenstellenden Ergebnis führen. Es treten reversible Isomerisierungsreaktionen auf. Bei der Reaktion von 20b mit molaren Mengen Bromwasserstoff erhielten *Micheel und Petersen* zwar unmittelbar 21a, aber nur in 30proz. Ausbeute ⁵⁴⁾. Mit höherer Konzentration an Reagenz entstand primär das 2-Brom-2-methyl-(3',4',6'-tri-O-acetyl-1',2'-didesoxy- α -D-glucopyrano)-[2',1':4,5]oxazolidiniumbromid (71 %), das, mit Ethanol behandelt, 62 % 21a lieferte. *Weidmann et al.* konnten bei der Behandlung von 20b mit Bromwasserstoff in Eisessig oder Acetylbromid in ausgezeichneter Ausbeute (81 %) das vorher nicht faßbare Zwischenprodukt 22 isolieren ⁵³⁾. Versetzt man eine Lösung von 22 in absol. Trichlormethan mit absol. Diethylether und absol. Petrolether, kristallisiert 21 in 25proz. Ausbeute aus. Wesentlich effektiver ist die von *Gillard und Israel* beschriebene Bromierung ⁵⁵⁾. In eigenen Experimenten lieferte 20b mit Trimethylsilylbromid bei 0°C in Dichlormethan nach 2 h quantitativ 21a.

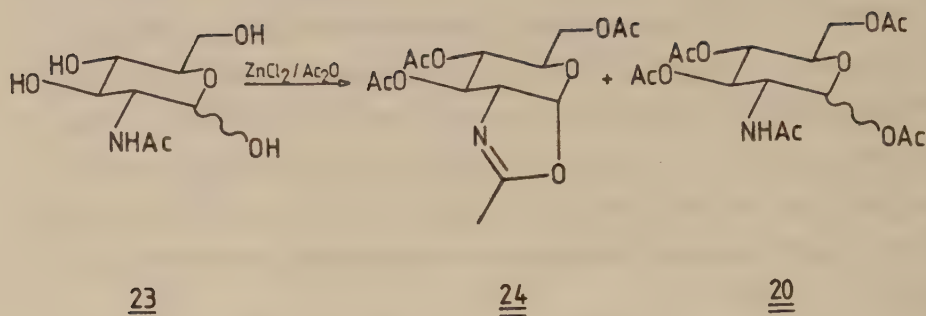
Abb. 8



In diesem und den folgenden Formelschemata wurde die Nummerierung der Verbindungen entsprechend der Konfiguration am anomeren Zentrum mit dem Zusatz a (für α) und b (für β) versehen.

Das ^1H -NMR-Spektrum zeigte eindeutig, daß das Bromid 21a entstanden war. Das Dublett für das 1-H ($J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$) verschob sich im Vergleich zur Ausgangsverbindung 20b deutlich zu tieferem Feld (6.51 ppm, $\Delta\delta = 0.8 \text{ ppm}$). Die flüchtigen Nebenprodukte - Trimethylsilylacetat und überschüssiges Trimethylsilylbromid - konnten zum größten Teil im Vakuum entfernt werden. Das so erhaltene Bromid 21a kann für die Glycosidierung unter modifizierten Koenigs-Knorr-Bedingungen eingesetzt werden.

Einen weiteren Donor für die Glycosidsynthese stellt das 2-Methyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-didesoxy- α -D-glucopyrano)-[2,1-d]-2-oxazolin (24, Abb. 9) dar. Die Herstellung erfolgte aus 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose (23) in Essigsäureanhydrid mit wasserfreiem Zinkchlorid in 45proz. Ausbeute⁵⁶). Als zweites Produkt traten bei diesem Verfahren mit 34proz. Ausbeute die beiden Anomeren der 2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy-D-glucopyranose 20a und 20b auf. 20b kann wiederum für die Bromierung mit Trimethylsilylbromid eingesetzt werden. Außerdem kann nach *Srivastava* die α - und die β -Verbindung 20 durch Umsetzung mit Zinn-(IV)-chlorid in Dichlormethan bei Raumtemperatur in das Oxazolin 24 überführt werden⁵⁷). Auch die Behandlung von 20b mit Eisen-(III)-chlorid führt zum Oxazolin 24²⁷).



2.2.2 Glycosylakzeptoren

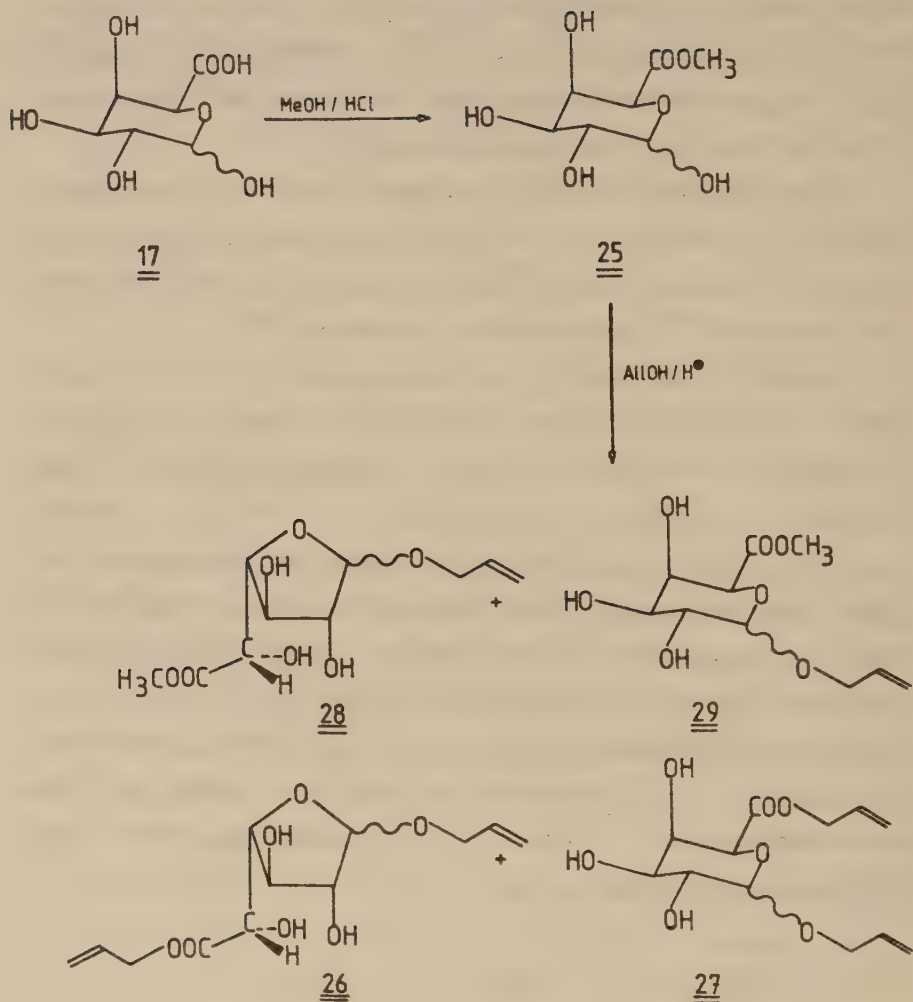
Die Disaccharidsynthese erfordert einen geschützten Glycosylakzeptor. Der Schutz der Säurefunktion als Methylester und der 1-Hydroxylgruppe der Galakturonsäure durch Einführung der Allylgruppe sind geeignet. Damit steht die 2-, 3- und 4-Hydroxylgruppe für die Glycosidierungsreaktion zur Verfügung. Falls notwendig, sollte auch ein in 3,4-Position geschützter Akzeptor vorhanden sein.

Ausgegangen wurde von dem Monohydrat der Galaktopyranuronsäure (17), für deren Veresterung zwei Methoden anwendbar sind. 17 kann durch Umsetzung mit etherischer Diazomethanlösung⁵⁸⁾ oder nach Jansen und Jang⁵⁹⁾ mit einer 0.02 N Lösung von Chlorwasserstoff in absol. Methanol in den Methylester 25 überführt werden. Die Umsetzung von 17 mit methanolischer Salzsäure wurde der Diazomethanmethode vorgezogen, weil sie einfacher in der Durchführung ist und den Methyl-D-galaktopy-

ranuronsäureester (25, Abb. 10) in 77proz. Ausbeute lieferte. Die bei der Behandlung mit methanolischer Salzsäure häufig auftretende Methylglycosidbildung beträgt unter den angewendeten Reaktionsbedingungen - 0°C und 66 h Reaktionszeit - nur ca. 10 %. Die auftretenden Nebenprodukte entstehen durch säurekatalysierte Ringöffnung und Isomerisierung.

Über die säurekatalysierten Reaktionen von Galaktopyranuronsäure mit Methanol und die damit verbundene Isomerenverteilung und Isomerisierung der Galakturonoside berichten *Cheetham und Sirimanne* ⁶⁰⁾ sowie *Schmidt und Neukom* ⁶¹⁾.

Zur Einführung einer Allylschutzgruppe in 1-Position wurde der Methylgalaktopyranuronsäureester 25 mit absol. Allylalkohol in Gegenwart von Dowex-50 (H⁺-Form) umgesetzt (Abb. 10)⁶²⁾. Das gewünschte Allylglycosid 29 konnte nur in 18proz. Ausbeute isoliert werden. Durch die Säurekatalyse war Ringöffnung und Isomerisierung zum Furanosid eingetreten. Das entsprechende Methyl(allyl-D-galaktofuranosid)uronat (28) wurde in 33proz. Ausbeute erhalten. Als Nebenprodukte konnten in 26proz. Ausbeute die Umesterungsprodukte 26 und 27 (im Gemisch) nachgewiesen werden. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte kein Signal für die Methylestergruppen; aufgrund der Integration mußten zwei Allylgruppen vorliegen.



Das Auftreten der unerwünschten Allyl(allyl-D-galaktoglycosid)uronate führte zu der Überlegung, erst die Verbindung 27 herzustellen und dann durch Umesterung die Überführung in den

Methylester zu erreichen.

Hierzu wurde das D-Galakturonsäuremonohydrat (17) in absol. Allylalkohol unter verschiedenen Bedingungen mit Dowex-50 (H^+ -Form) behandelt und die Furanosid- und Pyranosidderivate isoliert (Abb. 11)⁶²⁾. Einen Überblick gibt Tabelle 1. Die optimalen Reaktionsbedingungen lagen demnach bei ca. 16-48 h bei 80°C. Die Ausbeute des gewünschten Pyranosidderivats 27 betrug dann etwa 30 %. Unter diesen Bedingungen erhielt man ein Verhältnis von ca. 3.5:1 für die Anomeren 27a und 27b und von ca. 1:2 für die Furanosidverbindungen 26a und 26b. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur führte zu einer geringeren Gesamtausbeute; es traten verstärkt Zersetzungsprodukte auf.

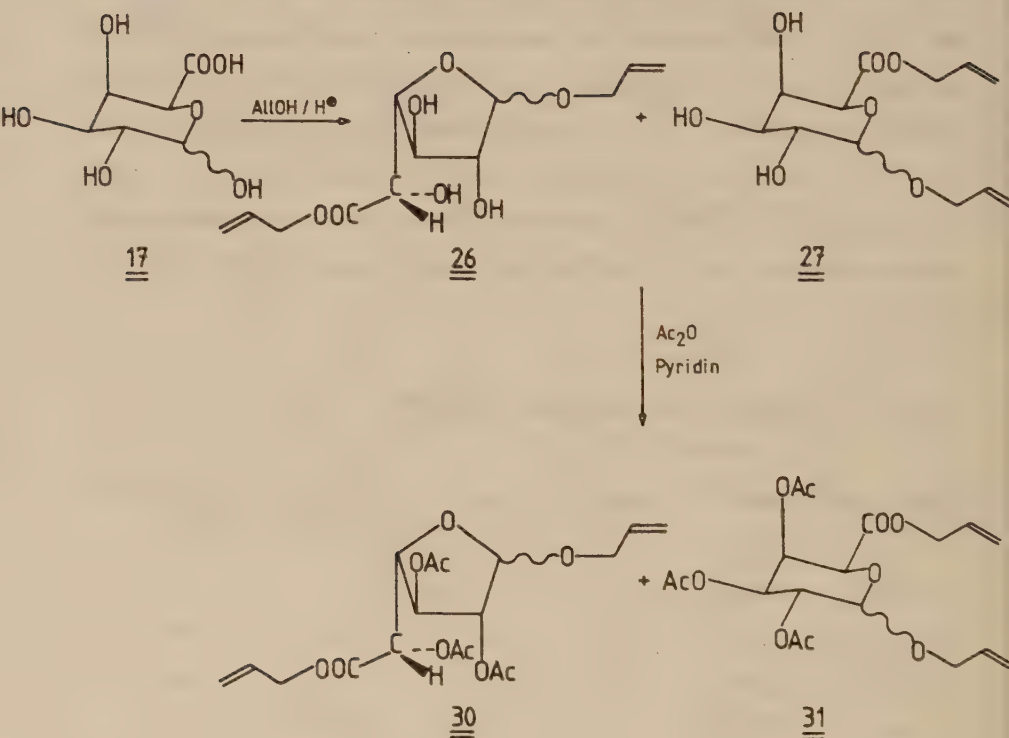
Tab. 1: Allylierung der D-Galakturonsäure

Temperatur	Zeit	<u>26a</u> (%)	<u>26b</u> (%)	<u>27a,b</u> (%)	gesamt (%)
80°C	30 min	9	17	4	30
80°C	1 h	16	24	7	47
80°C	16 h	13	25	30	68
80°C	48 h	49		27	76
85°C	15 h	7	20	28	55

17 wurde also mit Allylalkohol/Dowex-50 (H^+ -Form) bei 80°C 46 h umgesetzt. Durch zweimalige erneute Gleichgewichtseinstellung des isolierten Galaktofuranosiduronat-Gemisches 26a/26b mit Allylalkohol/Dowex-50 (H^+ -Form) konnte in maximal 56proz.

Ausbeute das gewünschte Pyranosid-Gemisch 27a/27b hergestellt werden.

Abb. 11



Zuerst mußten die erhaltenen vier Produkte 26a/26b und 27a/27b charakterisiert werden. Dies gelang durch $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren. Die getroffene Zuordnung wurde durch $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Korrelationsspektren unterstützt. Weiterhin wurden die Furanosiduronate 26a und 26b sowie das Anomerengemisch der Pyrano-

siduronate 27a/27b in Pyridin mit Essigsäureanhydrid acetyliert (Abb. 11)⁶³). Von den acetylierten Verbindungen 30a und 30b sowie 31a und 31b wurden ^1H -NMR- und ^1H - ^1H -COSY-Spektren angefertigt. Die für die Zuordnung relevanten Signale sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tab. 2: Relevante NMR-Signale zur Unterscheidung der Furanosid- und Pyranosidanomeren

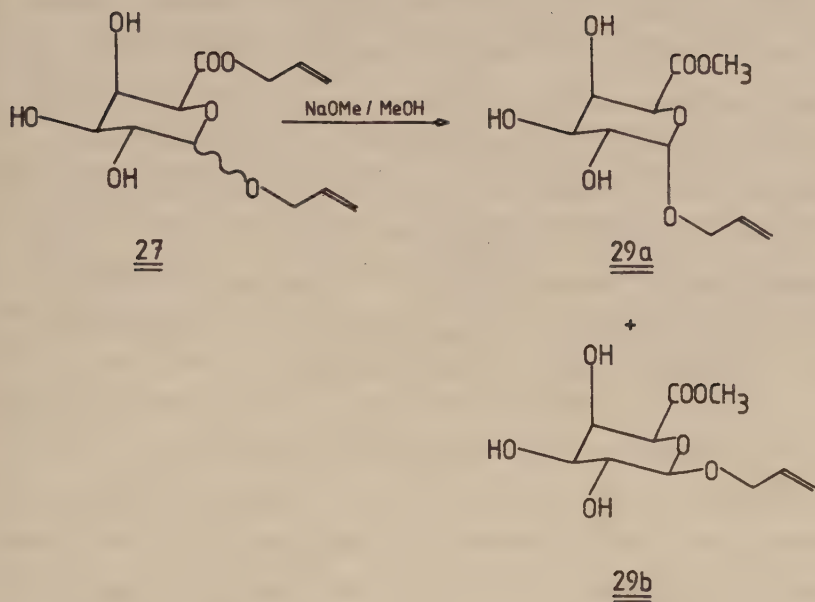
<u>26a</u>	<u>26b</u>	<u>27a</u>	<u>27b</u>	Zuordnung
4.92 (d, 5.0 Hz)	5.02 (s)	5.02 (d, 3.0 Hz)	4.31 (d, 7.5 Hz)	1-H
4.29 (dd, 2.5 Hz u. 9.0 Hz [*])	4.44 (s)	/ 4.27 (dd, 3.0 Hz u. 1.5 Hz)	4.27 (dd, 3.0 Hz u. 1.5 Hz)	5-H/4-H
100.02	107.69	98.16	101.66	C-1
82.64	86.73	70.40	69.81	C-4
<u>30a</u>	<u>30b</u>	<u>31a</u>	<u>31b</u>	
5.18 (d, 4.5 Hz)	5.08 (s)	5.25 (d, 3.5 Hz)	4.53 (d, 7.5 Hz)	1-H
5.26 (d, 3.5 Hz)	5.39 (d, 3.0 Hz)	/ 5.77 (dd, 3.5 u. 1.5 Hz)	5.71 (dd, 3.5 u. 1.5 Hz)	5-H/4-H

* Kopplung mit Hydroxylproton

In den ^1H -NMR-Spektren der Pyranoside ist deutlich die durch Acetylierung verursachte Verschiebung des 4-H-Signals (doppeltes Dublett) zu tieferem Feld zu erkennen, bei den Furanosiden die des 5-H-Signals (Dublett). Damit konnten die α - und β -Furanosidderivate 26a und 26b und die α - und β -Pyranosidderivate 27a und 27b vollständig identifiziert und charakterisiert werden. Diese Interpretation wurde durch Vergleich mit Literaturangaben bestätigt⁶⁴⁾.

Für die Umesterung wurde das Pyranosidderivat 27 mit äquivalenten Mengen Natriummethanolat-Lösung bei Raumtemperatur umgesetzt (Abb. 12). Das Methyl(allyl-D-galaktopyranosid)uronat (29) wurde in 80proz. Ausbeute bei 95proz. Umsatz isoliert. Auf dieser Stufe ist die säulenchromatographische Trennung in die Anomeren etwas einfacher als bei den Allylestern 27a und 27b, so daß sie hier bevorzugt durchgeführt wurde.

Die aufgenommenen ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren beweisen, daß die Pyranosidverbindungen 29a und 29b vorlagen. Das Signal für C-1 der α -Verbindung lag bei 100.2 ppm und das 1-H-Signal bei 5.41 ppm als Dublett mit einer Kopplung $J_{1,2} = 3.5$ Hz. Die β -Verbindung wies das C-1-Signal bei 104.1 ppm auf und für das 1-H ein Dublett mit der Kopplung $J_{1,2} = 7.5$ Hz bei 4.80 ppm. Das Singulett im ^1H -NMR-Spektrum bei 3.68 ppm zeigte, daß es sich bei Verbindung 29 um den Methylester handelte.



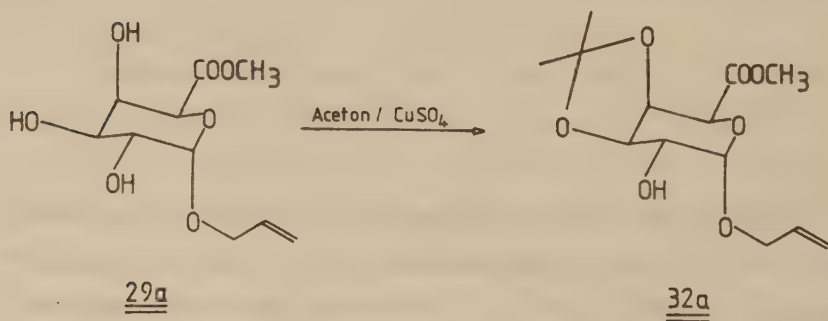
Eine weitere Ausgangsverbindung für eine Glycosidsynthese stellt ein in 3,4-Position geschütztes Methyl(allyl-D-galaktopyranosid)uronat-Derivat dar. Die Bildung eines Isopropylidenacetals bietet sich hier an. Diese Schutzgruppe lässt sich unter milden Bedingungen einführen. Die Acetalisierung erfolgt häufig in Aceton, wobei der Katalyst variiert werden kann⁶⁵⁾:

- 1) Mineralsäuren
- 2) Zinkchlorid
- 3) wasserfreies Kupfer-(II)-sulfat.

Eine weitere Möglichkeit ist die Umacetalisierung von 2,2-Dimethoxypropan unter p-Toluolsulfonsäure-Katalyse⁶⁶⁾. Isopro-

pylidenderivate sind im allgemeinen thermo- und basenstabil und werden weder reduktiv noch oxidativ gespalten⁶⁷⁾. Sie hydrolysieren dagegen leicht bei der Behandlung mit wäßrigen Säuren. Ein weiterer Vorteil ist, daß die Lage der ¹H-NMR-Signale der Isopropylidengruppe die Auswertung der Disaccharidspektren nicht behindern würde. Als Schutzgruppe konnte so die Isopropylidengruppe durch Rühren von 29a in Aceton mit wasserfreiem Kupfer-(II)-sulfat bei Raumtemperatur innerhalb 4 d in 97proz. Ausbeute eingeführt werden (Abb. 13)⁶⁸⁾. Die beiden Methylgruppen des Isopropylidenacetals 32a lieferten im ¹H-NMR-Spektrum jeweils ein Singulett bei 1.31 und 1.46 ppm.

Abb. 13

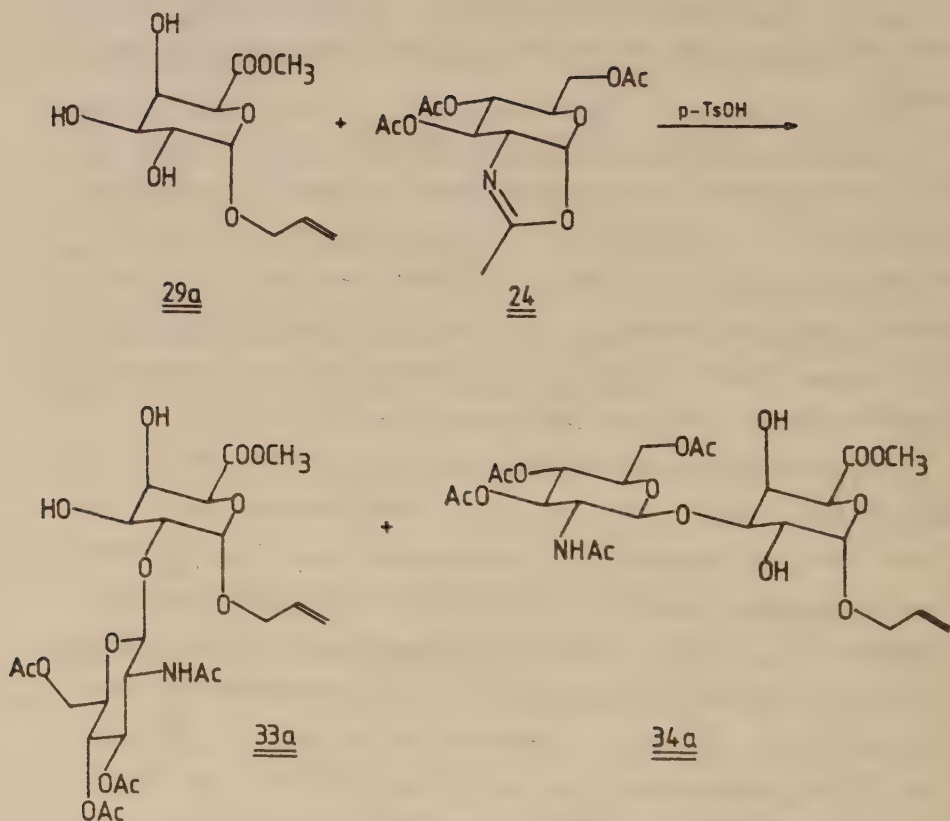


2.3 Synthese der (81→2)-verknüpften Disaccharide

Für die Verknüpfung der beiden Monosaccharid-Bausteine sind das Oxazolin-Verfahren und die Koenigs-Knorr-Methode interessant.

Auf eine weitere Möglichkeit - die Umsetzung von 29a mit der 2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranose 20b unter Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-Katalyse - wurde verzichtet, da vorab durchgeführte Versuche unbefriedigende Ergebnisse lieferten. So konnte bei 5 Tagen Reaktionszeit und einem Umsatz von 65 % das Methyl(allyl-D-galaktofuranosid)uronat nur zu 8 % mit 20b verknüpft werden.

Die Glycosidierung nach dem Oxazolin-Verfahren führte zum gewünschten Disaccharid (Abb. 14). Der Glycosylakzeptor 29a wurde mit dem Oxazolin 24 in Nitromethan/Toluol bei erhöhter Temperatur unter Zugabe von p-Toluolsulfonsäure als Katalysator umgesetzt⁶⁹⁾. Später wurde noch zweimal Oxazolin 24 und einmal p-Toluolsulfonsäure nachgelegt. Das (81→2)-verknüpfte Disaccharid 33a konnte in 24proz. Ausbeute isoliert werden, aber auch das (81→3)-verknüpfte Disaccharid 34a entstand in 24proz. Ausbeute bei dieser Reaktion. Weiterhin wurden 4 % Edukt reisoliert. Optimierungsversuche führten zu dem Ergebnis, daß durch eine einmalige erhöhte Oxazolinzugabe und eine wesentlich verkürzte Reaktionszeit und das damit verbundene verminderte Auftreten von Zersetzungsprodukten des Oxazolins zwar ein geringerer Umsatz resultierte, doch die Ausbeute so auf 36 % (81→2)- und 33 % (81→3)-verknüpftes Disaccharid erhöht werden konnte (28 % Edukt 29a wurden reisoliert).



Die 2- und die 3-Position des Galakturonsäureesters 29a erwiesen sich bei dem Oxazolin-Verfahren als gleich reaktiv. Die Reaktivität der axialen 4-Hydroxylgruppe ist, wie erwartet, so gering, daß dort keine Glycosidierungsreaktion eintrat.

Die Strukturaufklärung der beiden Disaccharide 33a und 34a gelang mit Hilfe der ein- und zweidimensionalen NMR-Spektrosko-

pie (^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, DEPT-Spektrum). Von dem (B1+2)-verknüpften Disaccharid wurden zusätzlich ein ^1H - ^1H - und ^1H - ^{13}C -korreliertes und ein ^1H - ^{13}C -COLOC-Spektrum (correlation spectroscopy via long-range couplings) angefertigt.

Ausgehend vom Signal des C-1 der Galakturonsäure-Einheit von 33a bei 97.67 ppm konnte über die ^1H - ^{13}C -Korrelation das 1-H-Signal als Dublett mit $J_{1,2} = 3.5$ Hz bei 5.18 ppm gefunden werden. Das ^1H - ^1H -COSY-Spektrum zeigte dann eindeutig einen Crosspeak mit dem 2-H-Signal bei 3.87 ppm (dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz). Mit Hilfe der ^1H - ^{13}C -Korrelation erhielt man die C-2-Signallage bei 78.69 ppm. Das Signal für C-3 bei 67.69 ppm ließ sich in entsprechender Weise ermitteln. Die Tieffeldverschiebung im ^{13}C -NMR-Spektrum (im Vergleich zu 29a) für das C-2-Signal ist verursacht durch die glycosidische Bindung (β -Effekt). Zur Bestätigung wurde noch ein COLOC-Spektrum aufgenommen. Das C-2 zeigte außer den Kopplungen mit dem 2-H, 3-H und 4-H der Galakturonsäure-Einheit auch noch die Kopplung über den Sauerstoff mit dem 1-H des Glucosamin-Bausteins. Das C-3 dagegen koppelte nur mit dem 1-H, 3-H und 4-H im selben Zuckerteil. Ein weiterer Hinweis war die Verbreiterung der 3-H- und 4-H-Signale im ^1H -NMR-Spektrum durch die Kopplung mit den Hydroxylprotonen.

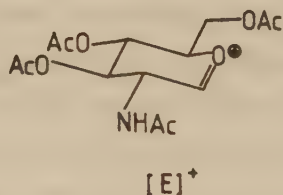
Die β -glycosidische Verknüpfung der beiden Monosaccharide, die aufgrund der Reaktionsführung zu erwarten war, bestätigte sich durch die Lage der Resonanzsignale der C-1-Atome der Disaccharide 33a und 34a im ^{13}C -NMR-Spektrum ($\delta = 102.75$ für 33a und 101.70 für 34a) und im ^1H -NMR-Spektrum durch die Kopplungskonstante von 8.5 Hz für das anomere Proton der Glucosamin-Einheit in beiden Disacchariden.

Nach der eindeutigen Zuordnung des (B1+2)-gebundenen

Disaccharids 33a ließ sich durch Spektrenvergleich auch die Struktur des (81+3)verknüpften Disaccharids aufklären. Der Unterschied lag in der Tieffeldverschiebung des C-3-Signals im ^{13}C -NMR-Spektrum (79.44 ppm); bei 29a trat das entsprechende Signal bei 70.9 ppm auf.

Im FIB-Massenspektrum zeigten 33a und 34a den $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Peak bei $m/z = 578$. Auffällig war weiterhin, daß die (81+2)-verknüpfte Verbindung 33a gegenüber 34a bevorzugt Wasser abspaltete, wohingegen bei 34a mit einer Hydroxylgruppe in 2-Position die Allylgruppenabspaltung bevorzugt war. Charakteristisch für diese beiden Disaccharide, wie auch für alle weiteren Disaccharide, waren der Massenpeak bei $m/z = 330$ ($[\text{E}]^+$, Abb. 15) und seine typischen Folgepeaks, die aus der acetylierten Glucosamin-Einheit stammten.

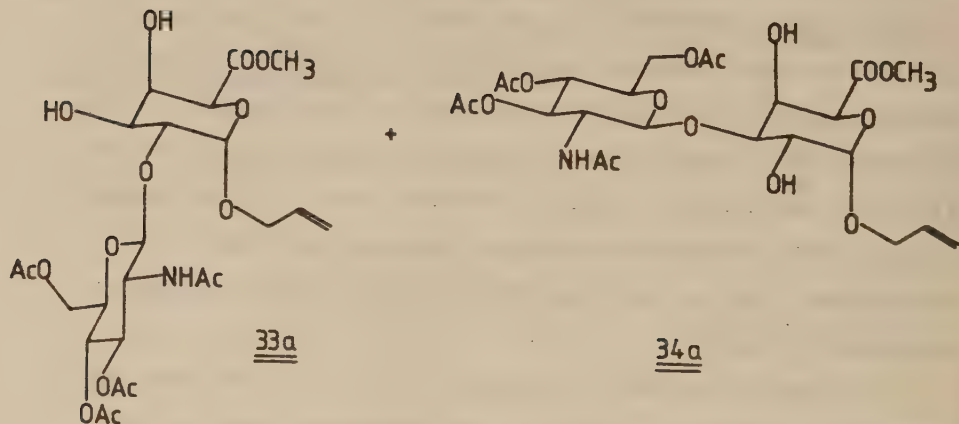
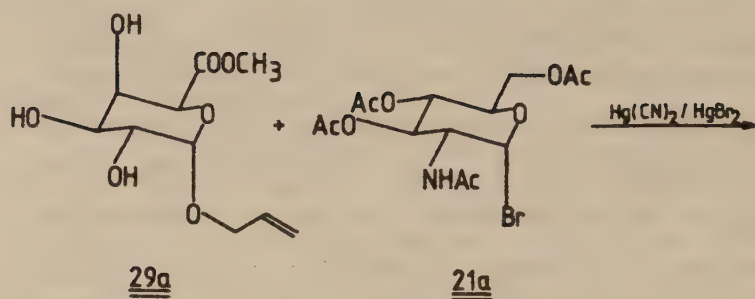
Abb. 15



Parallel zum Oxazolin-Verfahren wurde die Umsetzung von Methyl(allyl- α -D-galaktopyranosid)uronat (29a) mit dem 2-Acet-amido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (21a) unter Koenigs-Knorr-Bedingungen untersucht (Abb. 16). Da sich in vielen Fällen der Helferich-Katalysator Quecksilber-

(II)-cyanid als sehr effektiv erwiesen hat^{26a)}, wurde dieser Katalysator eingesetzt. Die bei der Reaktion gebildete Blausäure kann entweichen oder ist nicht störend. Da die Reaktion über eine positiv geladene Oxazolin-Zwischenstufe verläuft, sollten Lösungsmittel mittlerer Polarität wie Toluol/Nitromethan am günstigsten sein, um die Ionisierung dieser Zwischenstufe zu erleichtern. Bei zu polaren Lösungsmitteln tritt leicht Zersetzung des Halogenids ein; weniger polare Solventien wie Dichlormethan sind hingegen gut geeignet. Die Lösungsverhältnisse sind bei diesen Reaktionen kritisch und können insbesondere Selektivität und Ausbeute erheblich beeinflussen. Dichlormethan hatte sich bei der durchgeführten Disaccharidsynthese jedoch bewährt. Als Aktivator für das Quecksilber-(II)-cyanid wurde Quecksilber-(II)-bromid zugegeben, wobei das Verhältnis beider Katalysatoren sorgfältig einzustellen war. So lieferte die Glycosidierung von 29a mit überschüssigem Bromid 21a unter Quecksilber-(II)-cyanid/Quecksilber-(II)-bromid-Katalyse in Dichlormethan bei erhöhter Temperatur 35 % des (81+2)-verknüpften 33a und 53 % des unerwünschten (81+3)-verknüpften Disaccharids 34a⁶⁸⁾.

Die zu dieser Zeit veröffentlichten Beobachtungen von *Temeriusz, Radomski, Stepinski und Piekarska*, die in einer Koenigs-Knorr-Reaktion von Methyl-4,6-O-benzyliden-8-D-galaktopyranosiden mit 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid bevorzugt (81+3)-verknüpftes Disaccharid isoliert hatten, konnten damit bestätigt werden⁷⁰⁾.



Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Koenigs-Knorr-Reaktion (Helferich-Variante) gegenüber dem Oxazolin-Verfahren eine höhere Ausbeute an (B1 $\rightarrow$ 3)-verknüpftem Disaccharid **34a** lieferte, während die Ausbeuten an gewünschtem (B1 $\rightarrow$ 2)-gebundenen Disaccharid **33a** bei beiden Verfahren gleich war (ca. 35 %).

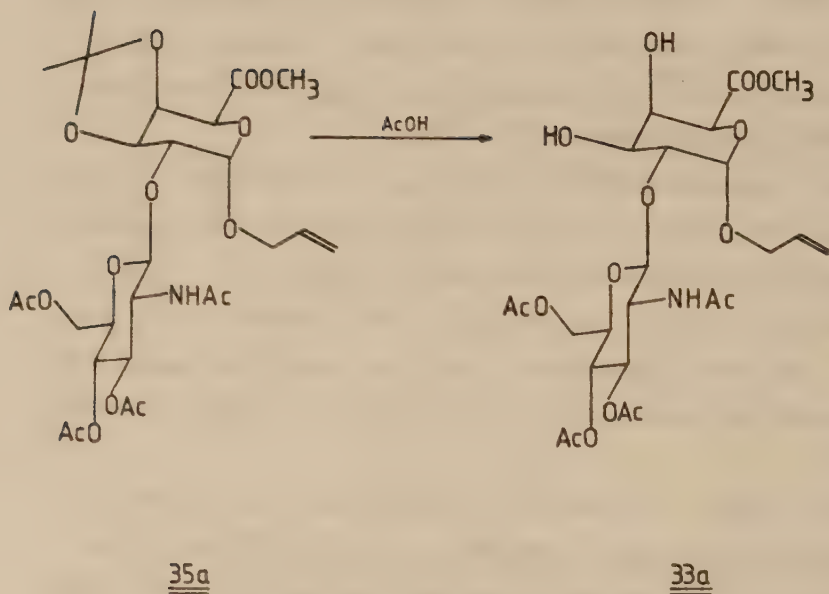
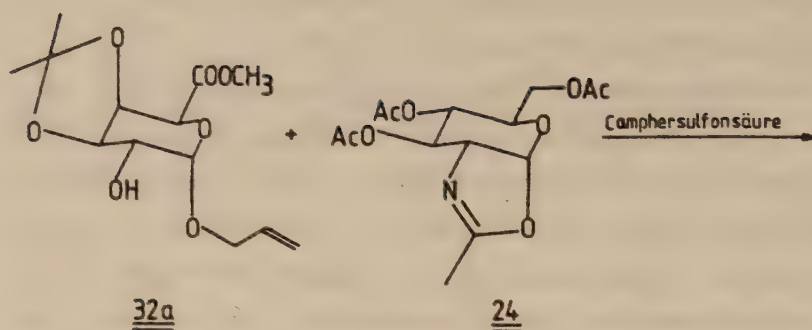
Um die Effizienz der Glycosidierung bezogen auf das (B1 $\rightarrow$

2)-verknüpfte Disaccharid 33a zu erhöhen, ist ein Schutz der 3-Hydroxylgruppe des Glycosylakzeptors, die Durchführung einer geeigneten Disaccharidsynthese und das Abspalten der in 3-Position eingeführten Schutzgruppe notwendig.

Als Glycosylakzeptor wurde deshalb das Methyl(allyl-3,4-O-isopropyliden- α -D-galaktopyranosid)uronat (32a) eingesetzt, das mit Oxazolin 24 in Toluol/Nitromethan unter p-Toluolsulfonsäure-Katalyse ohne und mit Zugabe von Molekularsieb keine befriedigenden Ergebnisse lieferte. Dagegen konnte in einer Koenigs-Knorr-Reaktion (Helferich-Variante) von 32a mit dem Bromid 21a in Dichlormethan im Injektionsgefäß das Disaccharid 35a in 98proz. Ausbeute isoliert werden. Die Versuche, diese Umsetzung auf größere Mengen zu übertragen, schlugen fehl. Bei einem Umsatz von etwa 40 % wurden nur 4 % 35a, aber verhältnismäßig große Mengen Oxazolin 24 isoliert.

Zum gewünschten Erfolg führte dann die Umsetzung von 32a mit überschüssigem Oxazolin 24 in Dichlormethan in Gegenwart von Camphersulfonsäure und Molekularsieb (Abb. 17). Die Reaktion wurde in einem Druckgefäß bei erhöhter Temperatur durchgeführt. Das (81 $\rightarrow$ 2)-verknüpfte, in 3- und 4-Position geschützte Disaccharid 35a wurde in 70proz. Ausbeute bei 89proz. Umsatz isoliert.

Die Signale der beiden Methylgruppen des Isopropylidenacetals (1.30 ppm und 1.46 ppm), das Auftreten der Acetylgruppensignale und das Signal der Methylestergruppe (3.79 ppm) im ^1H -NMR-Spektrum zeigten, daß sich das Disaccharid 35a gebildet hatte. Das FIB-Massenspektrum zeigte außerdem den $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Peak bei $m/z = 618$ und das Massenfragment E^+ bei $m/z = 330$.



Die Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe erfolgt im allgemeinen durch Hydrolyse mit wäßrigen Säuren. Durch Erhitzen von 35a in 20proz. wäßriger Essigsäure konnte so in ausgezeichnet-

neter Ausbeute (99 %) das (81→2)-verknüpfte, in 3,4-Position entblockierte Disaccharid 33a erhalten werden (Abb. 17)⁶⁸⁾. Eine weitere Methode zur Deacetalisierung, bei der glycosidische Bindungen nicht angegriffen werden, ist die Reaktion mit Jod in methanolischer Lösung⁷¹⁾.

2.4 Reaktionen der Disaccharide

2.4.1 Einführung der Carbamoylgruppe

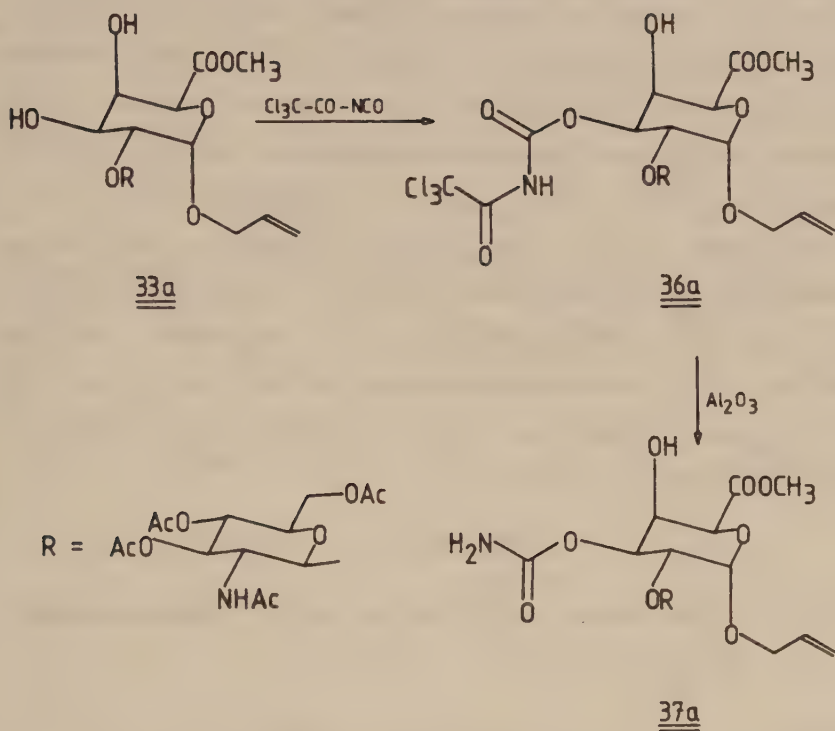
Zur Einführung der Carbamoylgruppe in das Disaccharid 33a wurde das aus der ^1H -NMR-Spektroskopie bekannte, sehr reaktive Trichloracetylisocyanat verwendet. Für die Reaktivität der Alkohole gilt: prim. > sek. > tert. > phenol. Hydroxylgruppe. Im ^1H -NMR-Spektrum kann man im allgemeinen das NH-Signal in einem Bereich von 8-13 ppm beobachten. Das verbreiterte Singulett ist jedoch oft nur schwierig zu erkennen. Die Anwesenheit der Trichloracetylcarbamoylgruppe kann jedoch eindeutig im IR-Spektrum durch die Carbonyl-Valenzschwingung bei ca. 1800 cm^{-1} bewiesen werden. Der durch Trichloracetylisocyanat verursachte 'Acylation Shift' beträgt je nach Lösungsmittel für geminale tertiäre Protonen 1.0-1.2 ppm und für geminale sekundäre Protonen 0.5-0.8 ppm⁷²⁾.

Aufgrund der hohen Reaktivität des Trichloracetylisocyanates besteht die Gefahr⁷³⁾, daß außer der 3- auch die wesentlich weniger reaktive 4-Position angegriffen wird. Träte dieses verstärkt auf, müßte eine andere selektivere Methode zur Einführung der Carbamoylgruppe angewendet werden. Die Umsetzung

von 33a mit Phosgen bzw. seinem Äquivalent 'Diphosgen' sollte zu einem cyclischen Carbonat führen, das mit Ammoniak dann sowohl in 3- wie in 4-Position geöffnet werden kann^{74a,b)}. Es wäre also sowohl das 3- wie auch das 4-O-Carbamoylprodukt zu erwarten. Eine weitere Möglichkeit ist die Umsetzung mit dem äußerst reaktiven Chlorsulfonylisocyanat, gefolgt von einer Hydrolyse, die dann direkt die unsubstituierte Carbamoylgruppe einführt⁷⁵⁾.

Die Reaktion des Disaccharids 33a mit äquivalenten Mengen Trichloracetylisocyanat⁷⁶⁾ bei -40°C lieferte nach säulenchromatographischer Reinigung 36a (Abb. 18) (nach ¹H-NMR-Spektrum und DC zu ca. 20 % durch ein Zersetzungsprodukt, vermutlich 37a, verunreinigt)⁷⁷⁾. Bei säulenchromatographischen Trennungen von 36a spaltete sich in starker Abhängigkeit von der Verweilzeit der Verbindung auf der Säule die Trichloracetylgruppe ab, so daß auch das chromatographisch gereinigte 36a mit 37a verunreinigt war. Durch zeitlich aufwendigere Trennungen konnte neben 36a auch 37a rein isoliert werden.

Durch ein ¹H-NMR-Spektrum, das mit Hilfe eines COSY-Spektrums interpretiert wurde, konnte bewiesen werden, daß das Trichloracetylisocyanat mit der 3-Hydroxylgruppe reagiert hatte. Das auffällig scharfe 3-H-Signal war im Vergleich zum entsprechenden Signal der Verbindung 33a um 1.03 ppm zu tieferem Feld verschoben. Im Gegensatz dazu erschien das 4-H-Multipllett durch die Kopplung mit dem Hydroxylproton verbreitert. Der Einfluß der Trichloracetylcarbamoylgruppe auf das 2-H und 4-H war mit einer Tieffeldverschiebung von ca. 0.4 ppm wesentlich geringer. Das IR-Spektrum zeigte bei 1795 cm⁻¹ die zugehörige Carbonyl-Valenzschwingung.



Es ist bekannt, daß die Trichloracetylgruppe mit wäßrigen Basen leicht abgespalten werden kann⁷⁸⁾. Die Abspaltung der Trichloracetylgruppe aus **36a** in einem Zweiphasensystem aus Dichlormethan/Methanol und wäßriger Kaliumcarbonatlösung gelang nicht. Dünnschichtchromatographisch konnte das Verschwinden von **36a** aus der organischen Phase beobachtet werden; in der wäßrigen Phase tauchte dafür eine polare Substanz auf. Es schien Esterhydrolyse eingetreten zu sein.

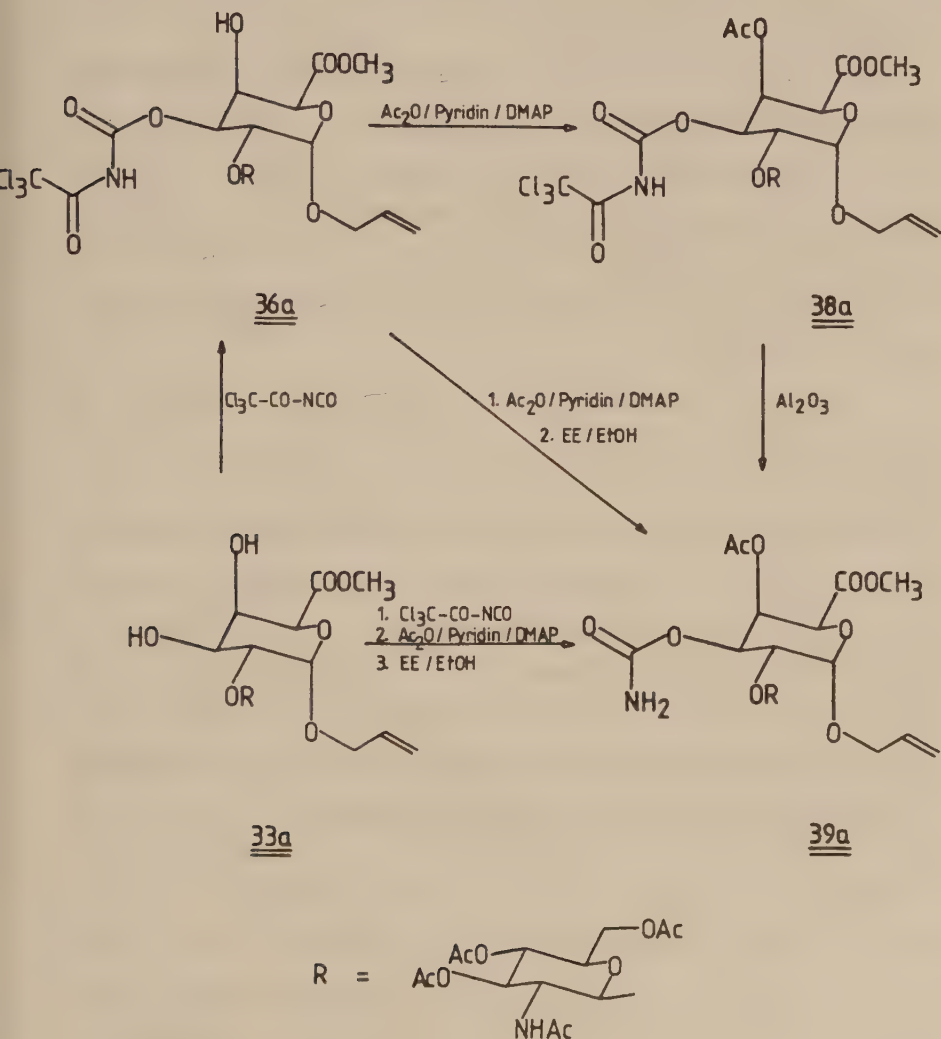
Eine 1986 veröffentlichte Methode verwendet Aluminiumoxid zur Trichloracetylgruppenabspaltung⁷⁹⁾. Diese Methode entspricht den geschilderten Beobachtungen, daß bei säulenchromatographischen Trennungen von 36a auch die entsprechende Verbindung ohne Trichloracetylgruppe isoliert wurde. Durch Behandeln von 36a mit neutralem Aluminiumoxid konnte in 50proz. Ausbeute bei 73proz. Umsatz 37a hergestellt werden (Abb. 18). Es war nicht möglich, das Produkt 37a mit Dichlormethan vollständig vom Aluminiumoxid zu lösen. Waschen mit Methanol löste zusätzlich das Aluminiumoxid auf. Den Beweis für die Abspaltung der Trichloracetylgruppe in der Verbindung 37a lieferte das IR-Spektrum durch das Fehlen der Carbonyl-Valenzschwingung bei 1800 cm^{-1} .

2.4.2 Acetylierung der 4-Position in der Galakturonsäure-Einheit

Für die spätere Phosphorylierung könnte es sich als vorteilhaft erweisen, wenn auch die freie 4-Hydroxylgruppe der Galakturonsäure-Einheit geschützt wird. Die Einführung einer Acetylgruppe bietet sich an. Die Acetylierung wurde aufgrund der zufriedenstellenden Ergebnisse bei der Acetylierung der Allyl(allyl-D-galaktoglycosid)uronate 26 und 27 mit Essigsäureanhydrid/Pyridin durchgeführt⁶³⁾. Da die 4-Hydroxylgruppe relativ unreaktiv ist, wurde der Acetylierungsreaktion die Steglich-Base Dimethylaminopyridin als Katalysator zugesetzt⁸⁰⁾. Wurde der Acetylierungsansatz nach 1 h Reaktionszeit direkt über eine Filtriersäule von den Salzen getrennt und

anschließend aufgearbeitet, so konnte in 42proz. Ausbeute das gewünschte acetylierte Produkt 38a erhalten werden (Abb. 19). Als Nebenprodukt fiel in 24proz. Ausbeute Verbindung 40a (Abb. 20) an.

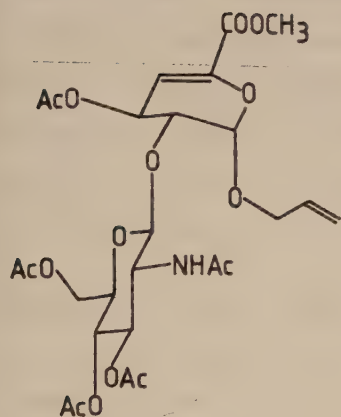
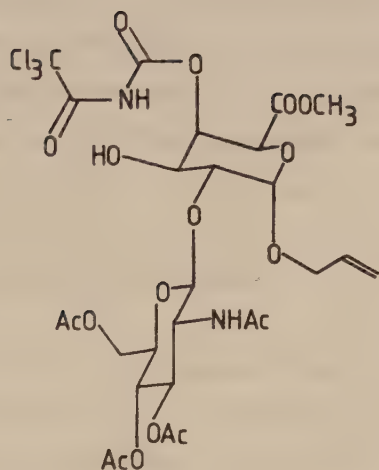
Abb. 19



Die Abspaltung der Trichloracetylgruppe aus 38a erfolgte dann mit neutralem Aluminiumoxid in 59proz. Ausbeute. Den Beweis, daß mit Aluminiumoxid nur die Trichloracetyl- und nicht vielleicht auch die essentielle Carbamoylgruppe abgespalten wurde, erbrachte das ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 39a. Das Signal bei 155.62 ppm ist charakteristisch für den quarternären Kohlenstoff der Carbamoylgruppe.

Weiterhin wurde beobachtet, daß bei direkter Aufarbeitung des Acetylierungsgemisches durch Zugabe von Essigester und Ethanol die Trichloracetylgruppe abgespalten wird. So wurde Verbindung 39a in 58proz. Ausbeute aus 33a über 3 Stufen hergestellt, und zwar durch Umsetzung mit Trichloracetylisocyanat und Acetylierung mit gleichzeitiger Trichloracetylgruppenabspaltung (Abb. 19).

Auch in diesem Fall wurde in etwa 25proz. Ausbeute 40a (Abb. 20) isoliert. Die Bildung dieses Nebenproduktes kann folgendermaßen erklärt werden. Durch die Umsetzung mit Trichloracetylisocyanat oder durch Wanderung der Carbamoylgruppe von der 3- in die 4-Position entstand Verbindung 41a (Abb. 20). Die Trichloracetylcarbamoylgruppe als gute Abgangsgruppe in 4-Position und das acide Proton in der 5-Position führten dann unter den basischen Acetylierungsbedingungen zur Eliminierung. Die angewendeten Reaktionsbedingungen bewirkten gleichzeitig die Acetylierung der freien 3-Hydroxylgruppe.

40a41a

Solche Eliminierungsreaktionen von Galakturonsäure-Derivaten unter basischen Bedingungen wurden auch von anderen Autoren beobachtet^{68,81)}. Eine Studie über die Zersetzungsreaktionen der α -D-Galakturonsäure im Essigsäureanhydrid/Basen-System wurde von *Tajima* veröffentlicht⁸²⁾. Die Bildung von 40a könnte eventuell durch den Verzicht auf Dimethylaminopyridin verhindert werden oder durch die Anwendung nicht basischer Acetylierungsbedingungen. Eine vielversprechende Möglichkeit wäre die Verwendung von Essigsäureanhydrid und Zinkchlorid⁵⁸⁾. Hierbei wäre es jedoch erforderlich, die Trichloracetylgruppe in einem weiteren Reaktionsschritt abzuspalten.

Aufgeklärt wurde die Struktur von 40a durch die Signale

bei 109.24 ppm und 141.15 ppm für die olefinischen Kohlenstoffatome C-4 und C-5 der Galakturonsäure-Einheit im ^{13}C -NMR-Spektrum. Die Signale der fünf Acetylgruppen waren im ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrum eindeutig zu erkennen.

2.4.3 Abspaltung der Allylgruppe

Zur Abspaltung der Allylgruppe entfallen zum Schutz der Glycosidbindung, der Estergruppe und zur Vermeidung einer Eliminierung in Nachbarstellung zur Estergruppierung jene Verfahren, die mit starken Basen oder Säuren arbeiten. Aus der Vielzahl an Möglichkeiten verbleiben nur die Verfahren, die einen Rhodium- oder Iridiumkatalysator und anschließend Quecksilber-(II)-oxid/Quecksilber-(II)-chlorid bzw. Jod einsetzen oder Palladium-(II)-chlorid verwenden.

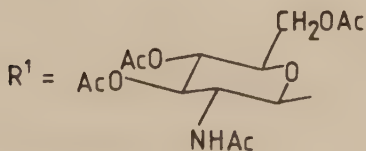
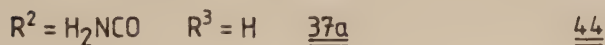
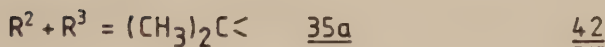
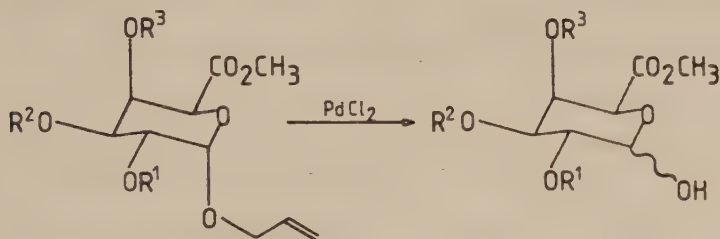
Bei der Isomerisierung der Allylschutzgruppe zur Propenylgruppe mit Tris(triphenylphosphin)rhodium-(I)-chlorid wird vereinzelt Reduktion zur Propylgruppe beobachtet^{22,83)}. Der Zusatz von 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan verhindert eine vorzeitige Hydrolyse des Propenylethers, die zum Propanal führen würde, das dann mit dem Katalysator das weniger reaktive Carbonylbis(triphenylphosphin)rhodium-(I)-chlorid bildet⁸⁴⁾.

Die Reduktion der Allylgruppe wird beim Iridium-Katalysator nicht beobachtet. Der Iridium-Katalysator ist noch nicht käuflich zu erwerben und seine Herstellung ist mit großem Arbeitsaufwand und hohen Kosten verbunden.

Mit Palladium-(II)-chlorid steht hier eine wichtige Alternative zur Verfügung. Die Reaktion mit Palladium-(II)-chlorid

wird in einem Eisessig-Wasser-Natriumacetat-Gemisch durchgeführt²⁵⁾, bei dessen pH-Wert die Disaccharide 35a, 37a, 39a stabil waren. Ausbeute und Reaktionszeit hingen von der Natriumacetatkonzentration ab. Die optimalen Bedingungen für die Abspaltung der Allylgruppe erforderten 0.1 molare Natriumacetatlösung und eine 24stündige Reaktionszeit. Die Produkte 42, 43 und 44 mit freier 1-Hydroxylgruppe waren so in ca. 80proz. Ausbeute erhältlich (Abb. 21).

Abb. 21



2.5 Phosphorylierungen nach dem Phosphitester-Verfahren

2.5.1 Wahl des Phosphitylierungsmittels

Allgemein bekannt ist, daß Aldose-1-phosphate - das β -Anomere stärker als das α -Anomere - empfindlich gegenüber Säuren sind⁸⁵⁾. Die Phosphorsäuretriester der Aldose-1-phosphate sind gegenüber den entsprechenden Diestern extrem labil. Erklärt wird dies mit den pK_A -Werten. Demnach stellt der zum Phosphorsäuretriester korrespondierende Diester eine gute Austrittsgruppe dar, während der zum Diester korrespondierende Phosphorsäuremonoester eine schlechte Austrittsgruppe ist⁸⁶⁾.

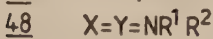
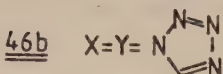
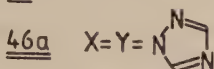
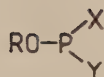
Über folgende Eigenschaften sollte das für die Phosphorylierung von 43 und 16 einzusetzende Phosphorylierungsmittel verfügen:

- Es sollte selektiv reagieren und kein symmetrisches Produkt, in dem zwei Disaccharide über ein Phosphoratom miteinander verknüpft werden, bilden.
- Es sollten relativ stabile Phosphorigsäure- und Phosphorsäuretriester entstehen.
- Die Schutzgruppe am Phosphor sollte selektiv und unter milden, nicht sauren Bedingungen abgespalten werden können.

Das von *Letsinger et al.* 1975 eingeführte Phosphitester-Verfahren basiert auf der weit größeren Reaktivität der Phosphorigsäure- gegenüber den Phosphorsäure-Derivaten, was die Reaktionszeit erheblich verkürzt^{87,88)}. Als Reagentien wurden Alkyldichlorphosphite (45, Abb. 22) eingesetzt⁸⁸⁾. Die erhöhte Reaktivität kann aber auch zu einem gesteigerten Auftreten von Nebenprodukten führen, was durch den Einsatz von Ditriazoliden

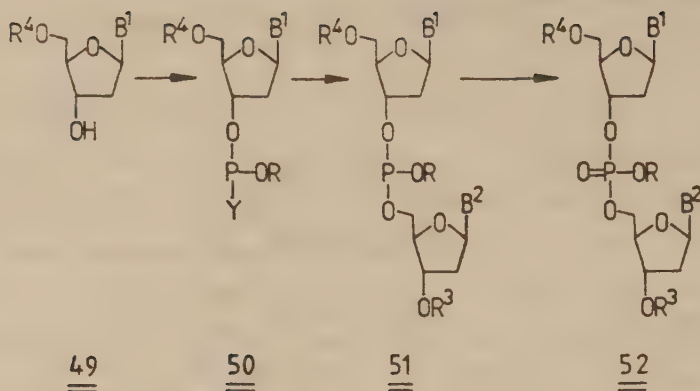
(46a, Abb. 22) und Ditetrazoliden (46b, Abb. 22)³³⁾, Phosphoramiditen (47, Abb. 22)³⁴⁾ und Phosphordiamiditen (48, Abb. 22)³⁶⁾ vermindert werden kann.

Abb.22



Durch Variation verschiedener Alkylreste mit den Gruppen X und Y der Phosphitylierungsmittel 45 bis 48 sind eine große Anzahl Reagentien entwickelt worden, um in der Oligonucleotidchemie die optimalen Stabilitäten, Reaktivitäten und somit auch Selektivitäten in Lösung und insbesondere an fester Phase zu erreichen⁸⁹⁾. Einige Aspekte dieser Reagentien seien hier kurz diskutiert⁹⁰⁾.

Im allgemeinen setzt man das Phosphitylierungsmittel im ersten Schritt mit der sekundären Hydroxylgruppe eines Nucleosides und im zweiten mit der primären Hydroxylgruppe eines anderen Nucleosides um (Abb. 23). Hierbei sind die Phosphordichloridite (45) reaktiver als die entsprechenden Monochloridite (50, $\text{Y} = \text{Cl}$). Vor der Umsetzung der Verbindung 50 zu 51 muß daher das überschüssige Phosphitylierungsmittel 45 entfernt werden⁹⁰⁾.

nach Letsinger et al.⁹⁰⁾

Weiterhin wird das Phosphitylierungsmittel 45 ($R = \text{CH}_3$) bei der Reaktion mit 49 als wenig selektiv eingestuft. Das hierbei entstehende Monochloridit 50 ($R = \text{CH}_3$, $Y = \text{Cl}$) ist noch so reaktiv, daß es sowohl mit primären als auch mit sekundären Hydroxylgruppen reagiert. Man erhält daher neben der gewünschten Verbindung 50 auch symmetrisch 3'-3'-verknüpftes Produkt und nicht umgesetztes 45. Der Ersatz eines Chlorsubstituenten durch eine Aminogruppe (47, $R = \text{CH}_3$) führt zu einem selektiv reagierenden Phosphitylierungsmittel. Das Produkt 50 ($R = \text{CH}_3$, $Y = \text{NR}^1\text{R}^2$) ist relativ unreaktiv und kann durch heterocyclische Verbindungen wie Tetrazol⁹⁰⁾ aktiviert werden^{89b,91)}. Neuere Veröffentlichungen belegen, daß das Tetrazol bei der Aktivierung der Verbindung 50 ($Y = \text{NR}^1\text{R}^2$) nicht nur als Säure sondern auch als Nucleophil wirkt. Dabei wird die Bildung des Tetrazolids 50 ($Y = \text{CHN}_4$), das zur Darstellung von 51

keiner weiteren Aktivierung bedarf⁹²⁾, als reaktive Spezies diskutiert⁹³⁾.

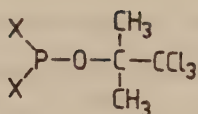
Für die Umsetzung des Nucleosids 49 mit Phosphordiamiditen 48 ist ebenfalls eine Aktivierung durch Heterocyclen notwendig. Die Aktivierung beruht auf der Wirkung als Säure^{94a)}. Inwieweit die Nucleophilie des Aktivators hier eine Rolle spielt, ist noch nicht eingehend geklärt.

Die Aktivierung durch heterocyclische Verbindungen bei der Reaktion von 49 mit den Phosphitylierungsmitteln 46a und 46b ist dagegen nur auf die Wirkung als Säure zurückzuführen^{94b)}.

Eine weitere Möglichkeit, die Reaktivität zu senken und die Selektivität zu steigern, besteht in der Einführung größerer Alkylreste in Verbindung 45. So ergibt der Übergang von $R = CH_3$ (wenig selektiv) über $R = CH_2CCl_3$ (mäßig selektiv) nach $R = C(CH_3)_2CCl_3$ ein selektives Phosphitylierungsmittel (NMR-spektroskopischer Nachweis). Die sterische Hinderung bewirkt eine größere Stabilität der Produkte 50 ($Y = Cl$), 51 und 52^{90,95)}. Dies wurde auch in einer anderen Versuchsreihe beobachtet⁹³⁾.

Ersetzt man in Verbindung 45 ($R = C(CH_3)_2CCl_3$) die Chlorsubstituenten durch Triazol- oder Tetrazolgruppen, so beobachtet man auch hier eine gesteigerte Selektivität, die die Bildung von symmetrisch 3'-3'-verknüpften Dinucleotiden verringert und die Ausbeute an 3'-5'-verknüpften Produkten erhöht⁹⁵⁾.

Wegen der größeren Stabilität der Zwischenprodukte, der hohen Selektivität und einer verbesserten Darstellungsmethode für 53 (Abb. 24)⁹⁵⁾ wurde das Ditriazolid 54 (Abb. 24) als Phosphitylierungsmittel gewählt.

53 X=Cl54 X=N 

54 besitzt außerdem die erforderliche selektiv abspaltbare Schutzgruppe. β -Halogenierte Alkylreste können leicht reduktiv entfernt werden. Als Reduktionsmittel eignen sich Zinkpulver und Zink-Kupfer-Paar^{96,97}), Vitamin B₁₂, Vitamin B₁₂-Analoge bzw. das extrem sauerstoffempfindliche Kobalt-(I)-phthalocyanin-Anion^{98,99}), Tri-n-butylphosphin in N,N-Dimethyl-formamid/Triethylamin^{90,100}) oder elektrochemische Verfahren¹⁰¹).

Die Herstellung von 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (53, Abb. 24) erfolgt durch Umsetzung von 2-Trichlormethyl-2-propanol mit überschüssigem Phosphortrichlorid in Pentan unter Zugabe von Pyridin⁹⁵). Das Ditriazolid 54 wurde dann jeweils in situ hergestellt^{33,95}). Für die Reduktion des β -halogenierten Alkylrestes hat sich Zink-Kupfer-Paar als geeignet erwiesen.

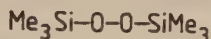
2.5.2 Oxidation von Trialkylphosphiten zu Trialkylphosphaten

Für die Oxidation von Trialkylphosphiten zu Trialkylphosphaten stehen ebenfalls mehrere Methoden zur Verfügung. In der Oligonucleotidchemie wird für diese Oxidation fast ausschließ-

lich ein Gemisch aus Jod und Wasser benutzt^{35a,102)}. Dieses erwies sich jedoch für die Oxidation von Zuckerphosphiten als ungeeignet¹⁰³⁾. Weitere Oxidationsmittel sind eingesetzt worden¹⁰⁴⁾. Von *Bentrude* wurde Sauerstoff/Azobisisobuttersäurenitril (AIBN) zur Oxidation von Nucleosid-Trialkylphosphiten eingeführt¹⁰⁵⁾. Diese Methode der radikalischen Oxidation ist auch auf Zuckerphosphite übertragen worden⁴⁹⁾.

Die Oxidation kann auch unter milden Bedingungen mit Bis(trimethylsilyl)peroxid (55, Abb. 25) durchgeführt werden¹⁰⁶⁾. Im Gegensatz zu Sauerstoff/AIBN soll 55 ionisch reagieren¹⁰⁷⁾. Es wurde wegen der milden Reaktionsbedingungen als Oxidationsmittel verwendet.

Abb. 25



55

55 ist in seiner Stabilität und Hydrolysebeständigkeit in etwa mit dem Di-tert-Butylperoxid vergleichbar¹⁰⁸⁾. Merkliche thermische Zersetzung tritt bei Normaldruck erst oberhalb 100°C ein¹⁰⁹⁾; beim Destillieren unter vermindertem Druck wurde jedoch schon explosionsartige Zersetzung beobachtet (Trimethylsilylhydroperoxid)¹¹⁰⁾.

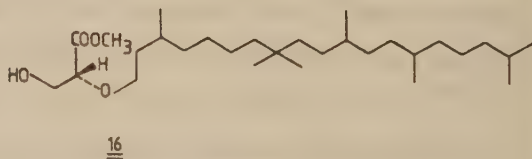
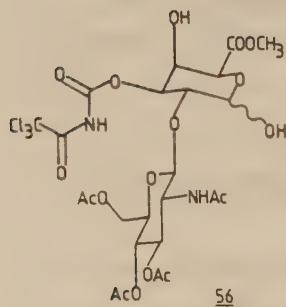
Die Herstellung von 55 erfolgt durch Umsetzung von Trimethylsilylchlorid mit wasserfreiem Wasserstoffperoxid und Pyridin als Säureakzeptor¹⁰⁹⁾. Gefahrloseres Arbeiten ist durch Einsatz eines 1:2-Adduktes aus 1,4-Diazobicyclo[2.2.0]octan und

Wasserstoffperoxid anstelle des wasserfreien Wasserstoffperoxids möglich. Dieses Addukt kann bei Raumtemperatur mehrere Monate gelagert werden, ist hygroskopisch und zersetzt sich bei Temperaturen oberhalb 60°C^{111}). Durch Umsatz von Trimethylsilylchlorid mit dem 1,4-Diazobicyclo[2.2.0]octan/Wasserstoffperoxid-Addukt unter Zusatz von 1,4-Diazobicyclo[2.2.0]octan als Protonenakzeptor erhält man das Peroxid 55¹¹²).

2.5.3 Phosphorylierungsreaktionen

Somit lag nun ein Konzept für die Phosphitylierungs-, Oxidations- und Reduktionsreaktionen vor. Erste Versuche, das Disaccharid 56 (Abb. 26) und das 2-O-Alkylglycerinsäurederivat 16²¹) zu phosphorylieren, lieferten jedoch keine befriedigenden Ergebnisse. Es stellten sich daher folgende Fragen:

Abb. 26



- Ist die 4-Hydroxylgruppe in der Galakturonsäure-Einheit reaktiv genug, um ebenfalls mit dem Phosphitylierungsmittel zu reagieren? Oder ist vielleicht bei der Allylgruppenabspaltung neben Anomerisierung auch wieder Isomerisierung zu den entsprechenden Furanoseverbindungen eingetreten?

Da eine eingehende Untersuchung dieser Fragen sehr zeitaufwendig schien, wurden die Probleme durch Einführung einer Schutzgruppe in 4-Position des Galakturonsäureringes gelöst. Die freie Hydroxylgruppe wurde acetyliert; die Acetylgruppe kann im letzten Syntheseschritt - der Esterhydrolyse - mit abgespalten werden.

- Geht die Aminofunktion der Carbamoylgruppe eine Reaktion mit dem Phosphitylierungsmittel ein?

Wäre dies der Fall, so müßte die Carbamoylgruppe geschützt werden. Die empfindliche Trichloracetylenschutzgruppe scheint jedoch nicht geeignet zu sein. Die Einführung der Carbamoylgruppe nach der Phosphorylierung würde eine anderweitige Schutzgruppe in 3-Position erfordern, was eine Herabsetzung der Effizienz der Synthese bedeutet.

- Wirkt sich die 2-Acetamidogruppe des Disaccharids eventuell nachteilig auf die Reaktivität der anomeren Hydroxylfunktion aus?

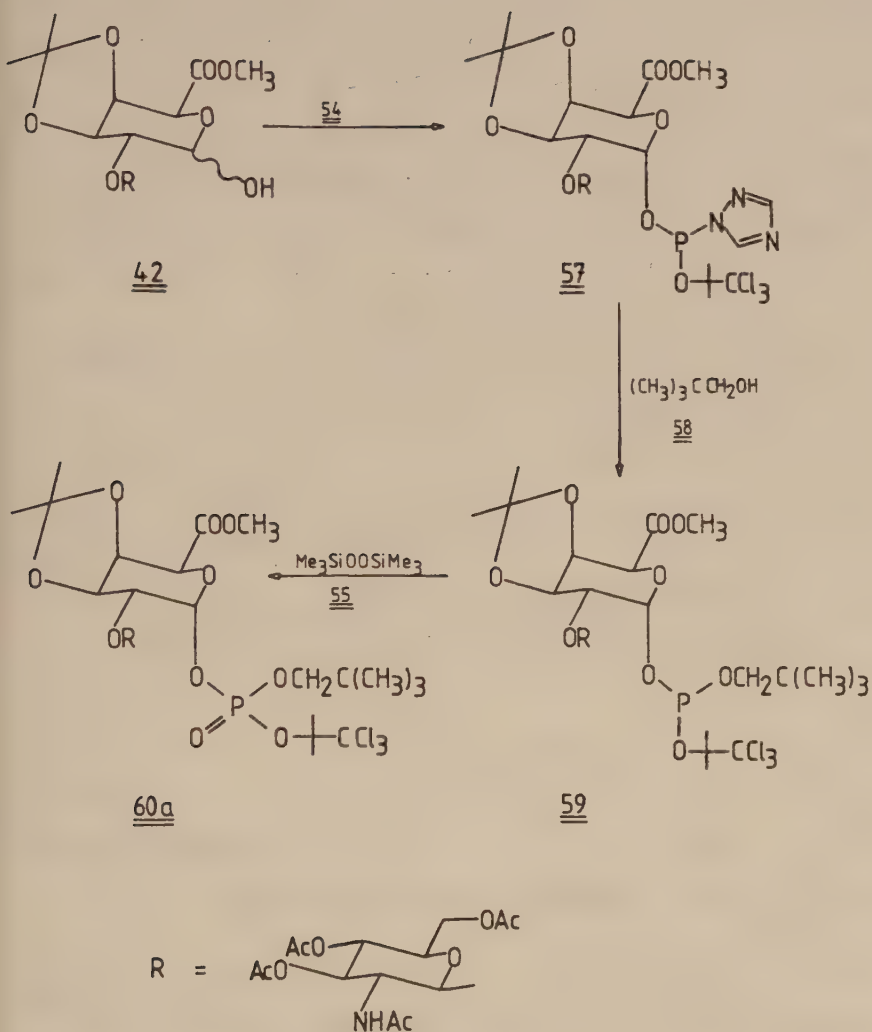
Zur Klärung dieser Probleme und zur Ausarbeitung einer allgemein für (81+2)-glycosidisch verknüpfte Disaccharide anwendbaren Phosphorylierungsmethode wurde Verbindung 42, die in 3,4-Position durch ein Isopropylidenacetal geschützt ist, als Modellsubstanz verwendet. 42 besitzt keine Carbamoylfunktion und auch in Bezug auf die Phosphorylierungsreaktion keine störenden reaktiven Gruppen. Es besteht somit nur der Einfluß

der 2-Acetamidogruppe in einem (81+2)-verknüpften Disaccharid.

Um die Phosphorylierung weiter zu vereinfachen, wurde anstelle des teuren Alkohols 16 Neopentylalkohol (58) (Abb. 27) eingesetzt. Ein weiterer Vorteil sind dabei die übersichtlicheren NMR-Spektren.

Die Phosphorylierung des Disaccharids 42 in Tetrahydrofuran/Ethyl-diisopropylamin mit 2,2,2-Trichlorethyl-dichlorphosphit blieb erfolglos⁴⁹⁾, während die Phosphorylierung mit 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (53) zu Phosphorylierungsprodukten führte⁹⁵⁾.

Der gewünschte Phosphorigsäuretriester 59 konnte durch Umsatz des Disaccharids 42 mit dem in situ hergestellten Ditriazolid 54 und anschließende Zugabe des Neopentylalkohols (58) in Tetrahydrofuran erhalten werden (Abb. 27). Die darauffolgende Oxidation mit Bis(trimethylsilyl)peroxid (55) erforderte einen Wechsel des Lösungsmittels. Das Abblasen des Tetrahydrofurans unter Argon und die Aufnahme des Rückstandes in Dichlormethan führten zur Rückbildung des Disaccharids 42. So konnten 23 % Triester 60a und 41 % 42 isoliert werden. Zur säulenchromatographischen Trennung des Triesters mußte dem Laufmittel Triethylamin zugesetzt werden, um die Zersetzung auf der Säule möglichst gering zu halten (ohne Triethylamin-Zugabe wurden 64 % Edukt zurückgewonnen).

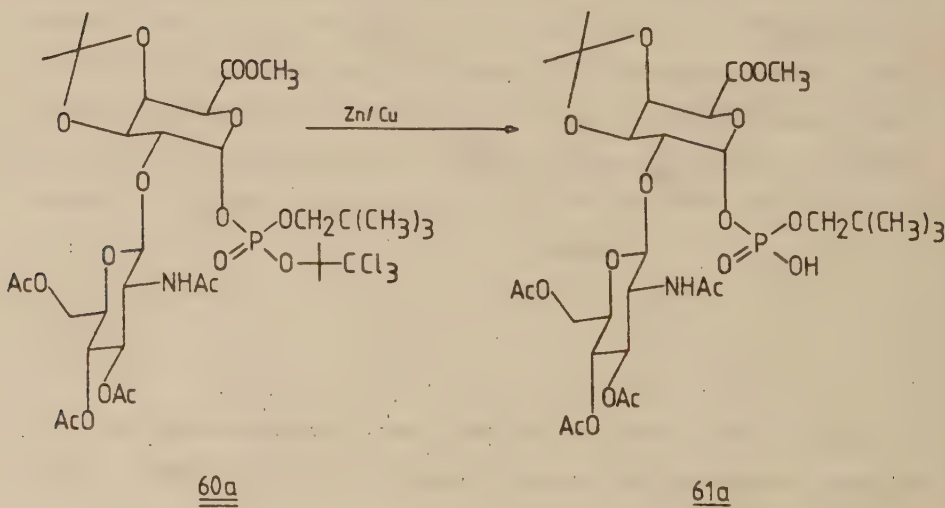


Das ^1H -NMR-Spektrum (80 MHz) des Phosphorsäuretriesters **60a** gab in diesem Fall keinen Hinweis auf Diastereomere. Das

1-H-Signal der Galakturonsäure-Einheit spaltete zum doppelten Dublett bei 6.45 ppm mit einer für das α -Anomere typischen Kopplung von $J_{1,2} = 3.2$ Hz und einer Kopplung mit dem Phosphor von $J_{1,P} = 5.5$ Hz auf. Ein weiterer Beweis für die Struktur der phosphorylierten Verbindung war das FAB-Massenspektrum mit dem $[M+H]^+$ -Peak. Weiterhin war im Massenspektrum die Abspaltung der Trichlormethyl-2-propylgruppe und das Disaccharidfragment mit seinen typischen Folgepeaks zu beobachten.

Die Abspaltung der 2-Trichlormethyl-2-propyl-Schutzgruppe aus 60a gelang quantitativ mit Zink-Kupfer-Paar in Pyridin unter Zusatz von 2,4-Pentandion (Abb. 28). Das ^1H -NMR-Spektrum (400 MHz) bewies u. a. durch das Fehlen der Signale bei ca. 2.15 ppm (Methylgruppen aus der Schutzgruppe am Phosphor) und durch das doppelte Dublett bei 5.65 ppm mit $J_{1,2} = 3.2$ Hz und $J_{1,P} = 7.2$ Hz für das 1-H das Vorliegen der Verbindung 61a.

Abb. 28



Im nächsten Schritt sollte zur Annäherung an das gestellte Phosphorylierungsproblem der Alkohol 58 durch das 2-O-Alkylglycerinsäurederivat 16 ersetzt werden.

Nachteilig hatte sich bei der Überführung von 59 in 60a das Abblasen des Tetrahydrofurans unter Argon und die anschließende Aufnahme des Rückstandes in absolutem Dichlormethan (für die Oxidation) erwiesen, was zur Rückbildung des Eduktes 42 geführt hatte. Die Phosphorylierung von 42 und 16 mit dem Ditriazolid 54 wurde daher auch in Dichlormethan durchgeführt und das entstandene Phosphorigsäuretriester-Gemisch 62 direkt mit Bis(trimethylsilyl)peroxid (55) oxidiert (Abb. 29). Es wurden 20 % 63a und 12 % 63b isoliert. Auch hier war bei der säulenchromatographischen Trennung der Triester 63a/63b Zersetzung eingetreten.

Die Verdopplung der Methylester-Signale in den ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 63a und 63b deuteten auf das Vorliegen diastereomerer Phosphate hin.

Die Abspaltung der 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe mit Zink-Kupfer-Paar führte auch hier quantitativ zu den Diestern 64a und 64b (Abb. 29).

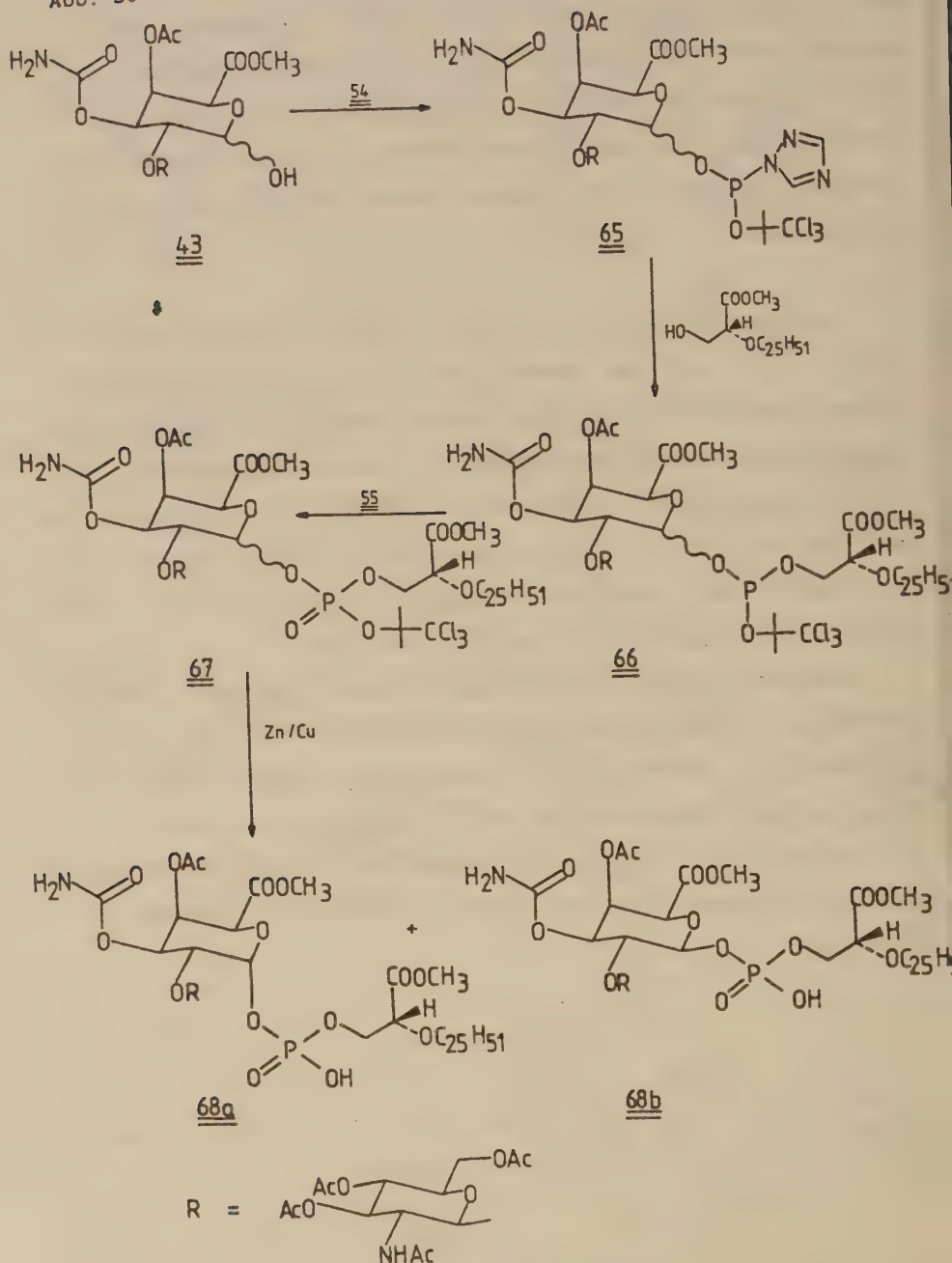
Das ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 64a zeigte durch die Kopplungen von $J_{1,2} = 3.3 \text{ Hz}$ und $J_{1,p} = 7.5 \text{ Hz}$ für das 1-H-Signal der Einheit F, daß es sich bei dieser Verbindung um das α -Anomere handelte. Bestätigt wurde dies durch die Lage des C-1-Signals bei 93.99 ppm im ^{13}C -NMR-Spektrum. Die β -Konfiguration des Diesters 64b wurde nicht eindeutig bewiesen. Die ^1H -NMR-Spektren von 64a und 64b unterschieden sich nur in der Signallage der Ringprotonen.

Eine Wiederholung dieser Phosphorylierung ohne Isolierung der Triester 63a und 63b führte in 22proz. Ausbeute zum α -anomeren Diester 64a und in 11proz. Ausbeute zum Diester 64b. Eine Abtrennung der Salze von den Triestern 63a und 63b mittels einer Filtriersäule war vor der Umsetzung mit Zink-Kupfer-Paar erforderlich. Bei dieser Phosphorylierung wurden insgesamt 36 % 42 reisoliert.

Mit diesem ausgearbeiteten Phosphorylierungsverfahren konnte dann auch das Disaccharid 43 mit der ungeschützten Carbamoylgruppe und der acetylierten 4-Hydroxylgruppe in der Galakturonsäure-Einheit erfolgreich phosphoryliert werden.

Die Umsetzung von 43 mit dem Ditriazolid 54, Zugabe des Alkohols 16, Oxidation mit 55 und anschließende Reduktion mit Zink-Kupfer-Paar lieferten 21 % 68a und 7 % 68b (Abb. 30). Auch hier wurden insgesamt 36 % Edukt 43 reisoliert.

Die Struktur des Diesters 68a ist spektroskopisch eindeutig belegt. Erwähnenswert ist das doppelte Dublett ($J_{1,2} = 3.5$ Hz und $J_{1,P} = 7.0$ Hz) bei 6.53 ppm für das anomere Proton der Einheit F im ^1H -NMR-Spektrum. Das ^{13}C -NMR-Spektrum zeigte u. a. das Signal des quaternären Kohlenstoffs der Carbamoylgruppe bei 157.12 ppm und das des C-1 des Galakturonsäureringes bei 95.88 ppm.



Bei den isolierten 7 % 68b handelte es sich aufgrund des ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrums um zwei Verbindungen; Signallagen und Kopplungen deuteten auf sehr ähnliche Verbindungen hin. Das ^1H -NMR-Spektrum zeigte jeweils ein doppeltes Dublett für das 1-H der Einheit F bei 6.26 ppm ($J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$, $J_{1,\text{P}} = 6.5 \text{ Hz}$) und 6.29 ppm ($J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$, $J_{1,\text{P}} = 6.5 \text{ Hz}$). Die Kopplung von 8.5 Hz entspricht der β -Kopplung eines anomeren Protons. Das ^{13}C -NMR-Spektrum wies zwei Signale bei 157.07 ppm für die Carbamoylgruppe auf. Für das C-1 der Einheit E fand man ein Signal bei 101.65 ppm und eines bei 101.39 ppm. Das ^{13}C -Signal für das C-1 der Einheit F erschien bei 99.92 und 99.81 ppm. Auch hier deuten die Werte von ca. 99 ppm für das C-1-Signal darauf hin, daß zwei β -Verbindungen vorliegen müssen. Aus den Spektren des Substanzgemisches 68b konnte jedoch nicht geklärt werden, worin sich die zwei Verbindungen unterschieden.

Zusammenfassend kann man sagen, daß ein allgemein anwendbares Verfahren entwickelt wurde, um Phosphorsäurediester vom Typ 68 in ca. 28proz. Ausbeute herzustellen. Die erwartete Labilität der Phosphorsäuretriester, besonders des β -Anomeren, führte dabei zur Reisolierung von etwa 35 % Edukt. Die für sehr instabil gehaltenen β -konfigurierten Diester konnten ebenfalls isoliert werden.

2.6 Abspaltung der Schutzgruppen aus dem Phosphorsäure- diester 68a

Der letzte Reaktionsschritt dieser Synthese ist eine Esterhydrolyse. Diese verläuft im Alkalischen rasch. Die Verseifung der O-Acetyl- und der Methylestergruppen muß jedoch so durchgeführt werden, daß die Carbamoylgruppe nicht hydrolysiert wird. Ein mildes Reagenz ist Lithiumhydroxid in einem Tetrahydrofuran/Wasser-Gemisch¹¹³).

Ein weiterer interessanter Aspekt ist, ausgehend von Verbindung 68a die Esterhydrolyse so durchzuführen, daß die Acetylgruppe in 4-Position der Einheit F nicht abgespalten wird. Da sich die Zielverbindung 13 nur in der 4-Position der Einheit F von der kleinsten antibiotisch wirksamen Moenomycin-Einheit 8 unterscheidet, wäre durch Untersuchung beider Verbindungen auf antibiotische Aktivität eventuell eine Aussage über die Bedeutung der 4-Position für die antibiotische Wirksamkeit möglich.

Die Hydrolyse des Diesters 68a mit Lithiumhydroxid (Abb. 31) wurde daher zunächst dünnschichtchromatographisch untersucht. Dabei wurde die Entstehung zweier Produkte beobachtet, wobei die unpolarere Verbindung bei längerer Reaktionszeit zur polareren abreagierte. Die Abspaltung der Carbamoylgruppe würde zu einem unpolareren Produkt führen. Dies legte die Vermutung nahe, daß es sich hierbei um die langsame Abspaltung der 4-O-Acetylgruppe in der Einheit F handelte. Aufgrund der DC konnte die Produktverteilung in Abhängigkeit von der Reaktionszeit folgendermaßen abgeschätzt werden:

Tab. 3 Produktverteilung bei der Verseifung von 68a

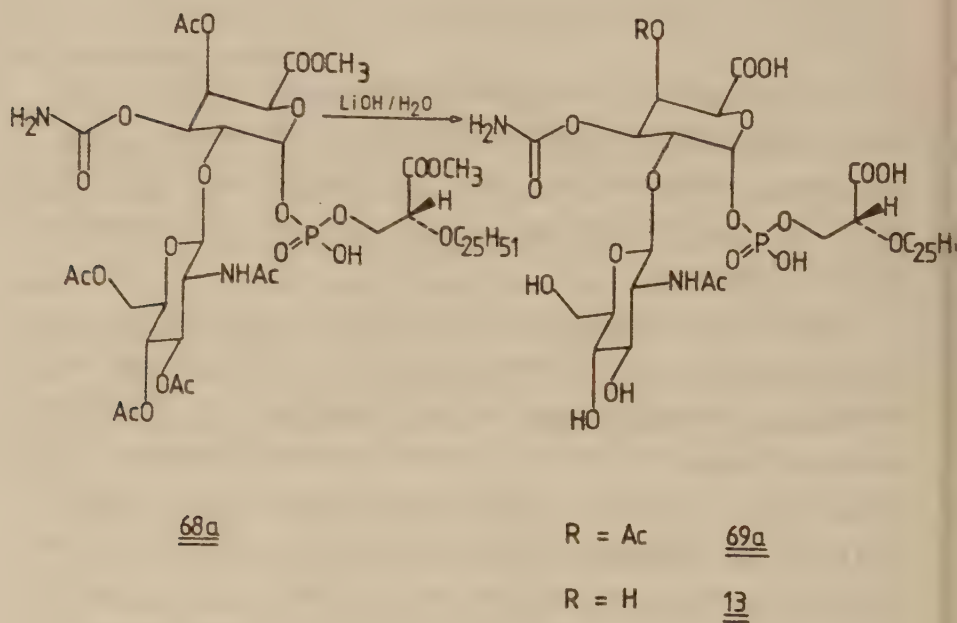
Reaktionszeit	<u>69a/13</u>
5 min	2 : 1
15 min	1 : 1
45 min	1 : 2
90 min	1 : 4

Die Ausbeute dieser Verseifungsreaktion lag nach säulenchromatographischer Trennung bei 93 %. Eine weitere Reinigung der Verbindungen 69a und 13 am Adsorberharz HP-20 und durch Reversed-Phase-Chromatographie war jedoch erforderlich (ca. 63 % Ausbeute).

Die Strukturzuordnung der Verbindungen 69a und 13 erfolgte durch FAB-Massen- und ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Hier zeigte Verbindung 13 gegenüber 69a und auch gegenüber der kleinsten wirksamen Moenomycin-Einheit 8 andere Lösungseigenschaften. 13 löste sich in keinem Trichlormethan/Methanol/Wasser-Gemisch (aufgrund der amphiphilen Natur des Moenomycin-Moleküls bisher für die NMR-Spektroskopie verwendet) und auch nicht in Methanol. Daher wurden die ^{13}C -NMR-Spektren beider Verbindungen in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ aufgenommen. Auf die Aufnahme von ^1H -NMR-Spektren wurde verzichtet. Aufgrund der amphiphilen Natur des Moenomycin-Moleküls müssen hierfür Lösungsmittelsysteme verwendet werden, in denen sich die Verbindungen gut lösen, aber andererseits die Viskosität gering bleibt, um Signalverbreiterungen durch Relaxationseffekte zu vermeiden. $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ und $[\text{D}_6]\text{DMSO}/\text{D}_2\text{O}$ -Mischungen hatten sich bisher als wenig geeignet

erwiesen. Dem Lösungsmittel müßte außerdem zur Protonierung und damit zur Verringerung der Wasserstoffbrückenbildung 6-8 $\mu\text{l/ml}$ Trifluoressigsäure zugesetzt werden. Dies führt jedoch auch zur langsamen Zersetzung der Verbindungen³⁾.

Abb. 31



Für die Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale wurden zum Vergleich Spektren der Verbindungen 8^{3,19)}, 11^{3,19)} und 68a herangezogen (Tabelle 4). Alle strukturelevanten ^{13}C -NMR-Signale der Verbindungen 69a und 13 konnten zugeordnet werden. Das Vorhandensein der Carbamoylgruppe wurde durch ein Signal bei 156.42 ppm für 13 und bei 155.80 ppm für 69a angezeigt. Die N-Acetylgruppe

lieferte ein Signal bei 169.42 bzw. 169.23 ppm, und auch der quarternäre Kohlenstoff der Carbonsäurefunktionen lieferte unter den angewendeten Aufnahmebedingungen (verbreiterte) ^{13}C -Signale. Das ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 69a unterschied sich von dem der Verbindung 13 durch das zusätzliche Signal bei 168.83 ppm für die 4-O-Acetylgruppe. Das Fehlen von Resonanzsignalen im Bereich zwischen $\delta = 46.1$ und $\delta = 55.4$ zeigte an, daß die Methylestergruppen hydrolysiert worden waren. In Verbindung 68a wurden die Signale der Methylester bei $\delta = 51.87$ und 52.13 beobachtet. Auch die FAB-Massenspektren beider Verbindungen stimmten mit dem Strukturvorschlag überein. Sie zeigten jeweils den $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Peak und alle erwarteten Massenfragmente¹⁹⁾.

Tabelle 4: ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 8, 11, 68a, 69a und 13

	9	12	68a	69a	13
Einheit E					
-NH-CO-CH ₃	172.6	173.1	171.6	169.2	169.4
-O-CO-CH ₃			171.0, 170.8, 170.5		
C-1	101.9	102.4	101.5	102.6	102.7
C-2	55.2	55.3	55.4	55.5	55.5
C-3	73.3	73.1	73.5	74.1	74.3
C-4	69.4	69.7	69.7	70.7	70.7
C-5	75.5	75.6	72.0	77.1	77.0
C-6	60.2	60.4	62.5	61.1	61.1
-NH-CO-CH ₃	21.7	22.1	23.4	23.0	23.1
-O-CO-CH ₃			20.8, 20.7, 20.5		
Einheit F					
-O-CO-CH ₃			168.4 ^a	168.8	
-O-CO-NH ₂	157.2	-----	157.1	155.8	156.4
C-1	94.5	94.1	95.9	93.7	94.1
C-2	76.7	78.7	75.5	75.5	75.1
C-3	73.8	73.8	68.9	67.9	67.9
C-4	72.2	72.5	71.0	?	72.6
C-5	71.9	72.0	69.9	69.6	?
C-6	172.2	173.5	169.9 ^a	168.4 ^a	170.4 ^a
-CO-OCH ₃			51.9 ^a		
-O-CO-CH ₃			20.4	19.9	
Einheit G					
HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃			45.8	45.4	45.3
HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃			8.8	8.7	8.6
Einheit H					
C-1	?	176.7	169.7 ^a	172.2 ^a	172.1 ^a
C-2	77.2	80.0	79.6	79.1	79.0
C-3	65.6	66.2	66.5	65.4	65.1
-CO-OCH ₃			52.1 ^a		
Einheit I					
C-1	69.2	68.4	69.6	67.9	67.9
C-2	35.6	?	?	?	?
C-8	?	?	32.7	32.2	32.2

^a Die Signale sind eventuell zu vertauschen.

3. In-vitro Test

Verbindungen 69a und 13 wurden in einem in-vitro Test auf ihre inhibierende Wirkung bei der Bildung des Peptidoglycans im Transglycosidierungsschritt untersucht. Hierfür wurden die Transglycosylase-aktiven Enzyme und die mit [^{14}C]Alanin radioaktiv markierte Lipidvorstufe 4 in Enzympräparationen von E. coli K 12 verwendet. Die Enzyminhibierung ergibt sich dann aus der Aktivitätsverteilung zwischen Lipidvorstufe und Glycanpolymerisat¹³⁾:

$$\% \text{ Inhibierung} = \frac{\text{Aktivität (Lipidvorstufe)} \times 100}{\text{Aktivität (Lipidvorstufe)} + \text{Aktivität (Polymer)}}$$

Tabelle 5 faßt die Ergebnisse für Flavomycin[®], Moenomycin A (1) und die Abbauprodukte 5 - 12 sowie für die Verbindungen 69a und 13 zusammen.

In diesem Test erwiesen sich die Verbindungen 69a und 13 als antibiotisch inaktiv. Ein Vergleich der Verbindung 8, das kleinste noch voll aktive Abbauprodukt von Moenomycin A, mit den Verbindungen 69a und 13 zeigt, daß die strukturellen Unterschiede in der 4-Position der Einheit F zu finden sind. Die Acetylierung der 4-Hydroxylgruppe der Einheit F führte auch nur zu einer geringfügigen Steigerung der Aktivität. Ob die äquatoriale 4-Hydroxylgruppe und/oder die 4-C-Methylgruppe in 8 für die antibiotische Aktivität ausschlaggebend sind, müssen weitere Versuche klären.

Tabelle 5

Die Wirkung von Flavomycin[®], Moenomycin A (1), der Abbauprodukte 5-12 sowie der Verbindungen 69a und 13 auf die Bildung des Peptidoglycans im Transglycosidierungsschritt.

Produkt	Konzentration	% Inhibierung
Flavomycin [®]	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	23
<u>1</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	54
<u>5</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	0
<u>6</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	8
<u>7</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	30
<u>8</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	45
<u>9</u>	100 µg/ml	100
	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	53
<u>11</u>	100 µg/ml	100
	10 µg/ml	56
	1 µg/ml	0
<u>10</u>	100 µg/ml	16
	10 µg/ml	0
	1 µg/ml	0
<u>12</u>	100 µg/ml	87
	10 µg/ml	44
	1 µg/ml	19
<u>69a</u>	10 µg/ml	43
	1 µg/ml	0
<u>13</u>	10 µg/ml	11
	1 µg/ml	0

4. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit ist ein Syntheseweg zur Herstellung von Strukturanalogen der kleinsten antibiotisch wirksamen Moenomycin A-Einheit 8 erarbeitet worden. In diesem Zusammenhang ist es erstmalig gelungen, eine Uronsäure in 1-Position zu phosphorylieren.

Ausgehend von D-Galaktopyranuronsäure (17) konnte in zwei Schritten - Allylierung der 1-Hydroxylgruppe mit gleichzeitiger Veresterung der Säurefunktion und Umesterung des Allylesters in den Methylester - der Glycosylakzeptor 29a in 36proz. Ausbeute hergestellt werden (Abb. 32).

Umsetzungen von 29a nach dem Oxazolin-Verfahren mit dem Glucosyldonor 24 oder nach der Koenigs-Knorr-Methode (Helferich-Variante) mit dem Donor 21a führten bevorzugt zum (81-3)-glycosidisch verknüpften Disaccharid 34a. Das gewünschte (81-2)-verknüpfte Disaccharid 33a wurde in beiden Verfahren mit etwa 35proz. Ausbeute isoliert (Abb. 32).

29a wurde daher durch Bildung des Isopropylidenacetals in 3,4-Position geschützt und mit dem Oxazolin 24 und Camphersulfonsäure als Katalysator glycosidiert. Die Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe durch Hydrolyse mit wäßriger Essigsäure führte in 75proz. Ausbeute zum (81-2)-verknüpften Disaccharid 33a (Abb. 32).

Umsatz mit Trichloracetylisocyanat, Acetylierung der 4-Hydroxylgruppe und Abspaltung der Trichloracetylgruppe ergab Verbindung 39a in 58 % Ausbeute. Die Abspaltung der Allylgruppe gelang mit Palladium-(II)-chlorid in 86proz. Ausbeute. Mit 43 stand eine Verbindung zur Verfügung, die sich für die Phospho-

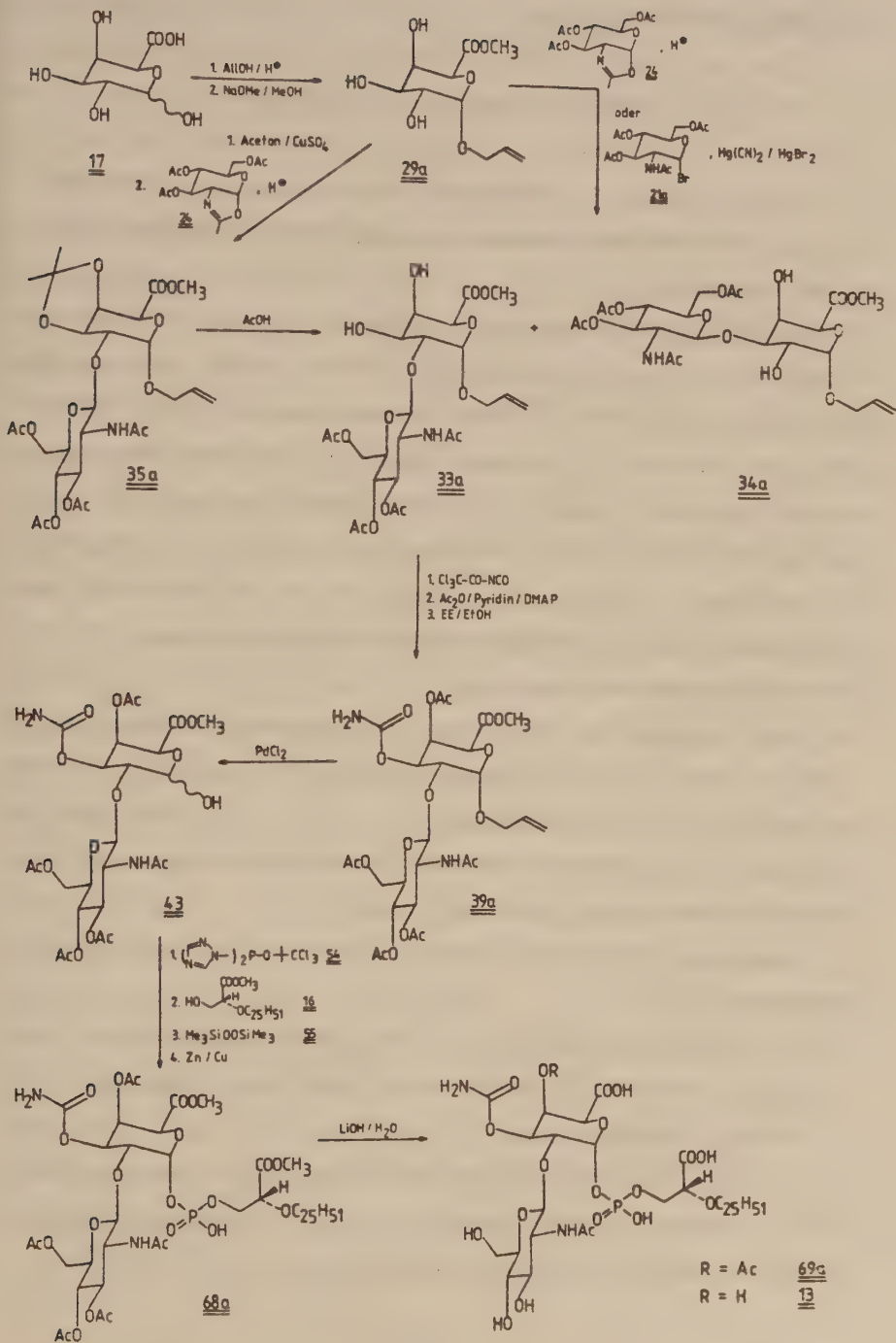
rylierung nach dem Phosphitester-Verfahren als geeignet erwies.

Nach einer Reihe von Vorversuchen wurde das Ditriazolid 54, das aus 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (53) in situ hergestellt wurde, als Phosphitylierungsmittel gewählt. Der bei der Umsetzung von 54 mit dem Disaccharid 43 und dem Alkohol 16 intermediär entstehende Phosphorigsäuretriester wurde mit Bis(trimethylsilyl)peroxid (55) oxidiert. Die Phosphatschutzgruppe wurde anschließend reduktiv mit Zink-Kupfer-Paar abgespalten. Aufgrund der zum Teil geringen Stabilität der Zwischenprodukte bei der Phosphorylierung erfolgte eine vollständige Charakterisierung erst auf der Stufe des mit 32proz. Ausbeute isolierten Phosphorsäurediesters 68a (Abb. 32).

Die anschließende Esterhydrolyse mit Lithiumhydroxid konnte so gesteuert werden, daß man sowohl die Zielverbindung 13 als auch die interessante Verbindung 69a mit einer Acetylgruppe in 4-Position der Einheit F erhielt. Eine aufwendige chromatographische Reinigung führte zu den reinen Verbindungen 69a und 13 (Abb. 32) in 59 % Gesamtausbeute.

Mit den Verbindungen 69a und 13 stehen damit vollsynthetische Strukturanaloge des Antibiotikums Moenomycin A zur Verfügung, die bis auf die 4-Position der Einheit F alle Strukturmerkmale des letzten noch antibiotisch aktiven Abbauproduktes 8 enthalten.

In dem in-vitro Test erwiesen sich die Verbindungen 69a und 13 jedoch als antibiotisch inaktiv.



5.1 Verwendete Geräte, Materialien und Methoden

Zur Bestimmung der Schmelzpunkte wurde ein Mikroskopheiztisch nach Kofler (Fa. Reichert) verwendet. Die Schmelzpunkte wurden korrigiert.

Die ~~NMR~~-Spektren wurden mit folgenden Geräten aufgenommen: WP-80 (Fa. Bruker, 80 MHz, ^1H -NMR) und AM-400 (Fa. Bruker, 400 MHz, ^1H -NMR; 100.6 MHz, ^{13}C -NMR). Die chemischen Verschiebungen werden in δ -Werten mit TMS oder undeutertem Restlösungsmedium als internem Standard angegeben. Das Lösungsmittel wird jeweils angeführt. Die Interpretation der Spektren erfolgte in der Regel nach 1. Ordnung. Die Angabe für die Multiplizität des 4-H-Signals der Glucosamin-Einheit bezieht sich nur auf das Erscheinungsbild des Signals.

Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte mit IR-Gitterspektrophotometern (Fa. Perkin-Elmer, Modelle 257 und 1310). Lösungen wurden in Ultrasilkküvetten ($d = 2.00\text{ cm}$) der Fa. Hellma vermessen. Das Lösungsmittel wird jeweils angegeben; die Konzentration betrug ca. 5-10 mg/0.2 ml.

Die Liquid-SIMS Messungen wurden mit den folgenden Geräten durchgeführt:

- a) MAT 731/SS 200 (Fa. Varian) mit modifizierter Sattelfeld-Ionenquelle (Fa. Ion Tech Ltd.); Xenon als Primärstrahl bei 4-6 keV ($\equiv$ FAB-MS).
- b) MAT-CH-5 (Fa. Varian) mit modifiziertem Thermionenemitter; Cs-Ionen als Primärionenstrahl bei 4-6 keV in einem einfach fokussierenden Sektorfeld ($\equiv$ FIB-MS).

Es entstehen bei diesen Messungen keine Radikationen sondern Anlagerungsprodukte (= Quasimolekülonen). Die Matrix wird jeweils angegeben.

Bei chlorhaltigen Verbindungen wird immer der Peak für das [³⁵Cl]-Isotop angegeben.

Für die analytische Dünnschichtchromatographie (DC) wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Fa. Merck, Typ 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0.2 mm und Fa. Macherey und Nagel, Typ Alugram SIL G/UV₂₅₄, Schichtdicke 0.25 mm) verwendet. Die Auswertung erfolgte mit dem Molybdato-phosphorsäure-Cer-(IV)-sulfat-Sprühareagenz¹¹⁴), mit dem von Dittmer und Lester entwickelten, für Phospholipide spezifischen Sprühreagenz¹¹⁵) und, soweit möglich, mit einem UV-Betrachter (254 nm).

Die präparative Säulenchromatographie unter geringem Druck (ND-SC) wurde mit selbst gefertigten Säulen der handelsüblichen Größen A kurz (etwa 9 g Kieselgel, ca. 1800 Böden), A lang (etwa 17 g Kieselgel, ca. 3200 Böden), B (etwa 60 g Kieselgel, ca. 3200 Böden) und C (etwa 270 g Kieselgel, ca. 3500 Böden) vorgenommen. Hierzu wurde Kieselgel der Korngröße 35-70 µm (Fa. Grace) verwendet. Zur Reversed-Phase-ND-SC wurde Kieselgel der Korngröße 40-63 µm (LiChroprep RP-18, Fa. Merck) eingesetzt. Die Substanzen wurden, falls möglich, im Laufmittel gelöst, sonst auf Kieselgel (Verhältnis Substanz:Kieselgel ca. 1:5 bis 1:10) aufgezogen, auf eine Vorsäule (1-10 g Kieselgel, 63-100 µm) gegeben und mit einer Niederdruckpumpe (Fa. Duramat) bei 1-2 bar eluiert. Für einfache Trennungen wurde Kieselgel der Korngröße 63-100 µm (Fa. ICN Biomedicals) verwendet. Das Elutionsmittel ist jeweils angegeben. Die Abtrennung anorgan-

ischer Bestandteile erfolgte mit dem Adsorberharz HP-20 (Fa. Mitsubishi).

Für die Hochdruckflüssigkeitschromatographie stand ein System, bestehend aus folgenden Einheiten, zur Verfügung: Pumpsystem 6000 (Fa. Waters Associates Inc.), UV-Detektor LC-3 (Fa. Pye Unicam), Schreiber PM 8221 (Fa. Philips). Für die analytische HPLC wurde Kieselgel der Korngröße 5 μm (Lichrosorb RP-18, Fa. Merck) verwendet. Die Bedingungen sind jeweils angegeben.

Die Elementaranalysen wurden bei der Fa. Dornis und Kolbe in Mülheim/Ruhr angefertigt.

Für die unter Feuchtigkeitsausschluß durchgeführten Versuche wurden trockene Lösungsmittel nach folgenden Verfahren bereitet: Acetonitril, Dichlormethan, Ethyldiisopropylamin, Nitromethan, Pentan, Pyridin, Toluol und Triethylamin wurden mit Calciumhydrid mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt und dann destilliert. Zur Absolutierung von Diethylether und Tetrahydrofuran (THF) wurde mehrere Stunden unter Rückfluß mit Lithiumaluminiumhydrid erhitzt und dann destilliert. Allylalkohol, Ethanol und Methanol wurden mit Magnesiumspänen mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt und dann destilliert. Aceton wurde nach 2stündigem Stehen über Phosphorpentoxid abdestilliert. Durch Behandeln mit Kaliumcarbonat wurde säurefreies Trichlormethan erhalten.

2-Trichlormethyl-2-propanol wurde 1-2 h bei 100°C unter Normaldruck über Calciumchlorid in der Trockenpistole getrocknet. p-Toluolsulfonsäure (p-TsOH) wurde bei 80°C im Hochvakuum über Sicapent in der Trockenpistole entwässert. Trockene p-Toluolsulfonsäure wurde an der violetten Farbe erkannt¹¹⁶⁾. Kupfer-(II)-sulfat wurde 4 h im Ölpumpenvakuum bei 400°C

entwässert. Zink-Kupfer-Paar wurde nach Lit.¹¹⁷⁾ bereitet. Quecksilber-(II)-bromid und Quecksilber-(II)-cyanid wurden 2 h bei 70°C und wasserfreie Camphersulfonsäure 6 h bei 100°C im Hochvakuum über Sicapent in der Trockenpistole getrocknet.

Bei feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden Zuckerderivate entweder 12 Stunden über Sicapent bei 40°C im Hochvakuum in der Trockenpistole getrocknet oder mehrfach mit absolutem Tetrahydrofuran bei 40°C im Argonstrom eingedampft und dann mehrere Stunden im Hochvakuum belassen.

Alle feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden in trockenen Glasapparaturen (mehrstündiges Erhitzen auf 130°C und anschließend mehrmaliges Evakuieren und Begasen mit Argon) unter Argonüberdruck durchgeführt. Die Eingabe von Substanzen und Reagentien erfolgte mit Hilfe der Septentechnik¹¹⁸⁾. Für kleine Ansätze feuchtigkeitsempfindlicher Reaktionen wurden Injektionsflaschen (Fa. WGA) der handelsüblichen Größen 1, 2, 5 und 10 ml verwendet. Die Gefäße wurden durch Aluminiumkappen mit teflonkaschierter Scheibe oder Gummieinsatz verschlossen (Verschließzange). Die Vorbehandlung der Gefäße und die Durchführung der Reaktionen erfolgte wie oben beschrieben.

Alle Eindampfoperationen wurden, wenn nicht anders angegeben, bei 40°C im Wasserstrahlvakuum mit Hilfe eines Rotationsverdampfers ausgeführt.

5.2 Herstellung der Monosaccharide

5.2.1 Herstellung der Glucosyldonatoren

2-Amino-2-desoxy-D-glucopyranose (18)

D-Glucosaminhydrochlorid (19) wurde nach *Westphal und Holzmann* umgesetzt⁵²⁾.

Schmp.: 128°C (Zers.; Lit.⁵²⁾; 120°C, Lit.¹¹⁹⁾; 88°C für α ,
110°C für β)

¹H-NMR: 80 MHz, D₂O; δ = 2.39-2.75 (mk, 5-H); 3.15-4.00 (mk, 2-H, 3-H, 4-H, CH₂-6); 4.52 (d, J_{1,2} = 7.5 Hz, 1-H der β -Form); 5.15 (d, J_{1,2} = 3.5 Hz, 1-H der α -Form).

Das Integrationsverhältnis betrug 1:5:0.66:0.34. Für die Anomeren ergibt sich damit ein Verhältnis von 1:2 für die β -Verbindung.

2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranose (20b)

20b wurde nach *Westphal und Holzmann* hergestellt⁵²⁾.

Schmp. stimmt mit Literaturangaben überein⁵²⁾.

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; δ = 1.89 (s, 3H, NHAc); 2.01 (s, 6H,

OAc); 2.07 (s, 3H, OAc); 2.10 (s, 3H, OAc); 3.79-3.92 (m, 1H, 5-H); 3.94-4.45 (mk, 3H, 2-H, CH₂-6); 4.94-5.29 (mk, 2H, 3-H, 4-H); 5.68 (d, 1H, 1-H); 5.81 (d, breit, 1H, NH, tauscht mit D₂O aus).
 $J_{1,2} = 9.0 \text{ Hz}$; $J_{\text{NH},2} = 10.0 \text{ Hz}$.

2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid
(21a)

21a wurde nach *Gillard und Israel* in absol. Dichlormethan hergestellt⁵⁵⁾.

Das ¹H-NMR-Spektrum stimmt mit Literaturangaben überein⁵⁵⁾.

2-Methyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-didesoxy- α -D-glucopyrano)-
[2,1-d]-2-oxazolin (24)

Verbindung 24 wurde nach *Pravdic, Inch und Fletcher* hergestellt⁵⁶⁾.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit Literaturangaben überein^{56,57)}.

5.2.2 Herstellung der Glycosylakzeptoren

Methyl-D-galaktopyranuronat (25)

D-Galakturonsäuremonohydrat (17) wurde nach *Jansen und Jang* umgesetzt⁵⁹⁾.

Ausb.: 77 %

¹H-NMR: 80 MHz, [D₅]Pyridin: Anomerengemisch mit Methylestersignalen bei $\delta = 3.65$ und 3.68 .

Umsetzung von 25 mit Allylalkohol

10.00g (48.08 mmol) Methyl-D-galaktopyranuronat (25) und 4.81 g Dowex-50 W-X2 (H⁺-Form, 100-200 mesh) wurden in 96 ml absol. Allylalkohol 75 min bei 90°C gerührt. Das Dowex-Harz wurde abfiltriert, mit Methanol gewaschen, und die vereinigten Filtrate wurden eingeeengt. ND-SC (C-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 5:1:1) ergab:

3.32 g (26 %) 26,27 (farbloser Sirup)

3.90 g (33 %) 28 (farbloser Sirup)

2.08 g (18 %) 29 (farbloser Sirup)

Methyl(allyl-D-galaktofuranosid)uronat (28)

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; $\delta = 2.80-3.10$ (s, breit, OH, tauscht mit D₂O aus); 3.79 (s, CO₂CH₃); 3.86 (s, CO₂CH₃);

3.92-4.81 (mk, CH₂, Ringprotonen, OH, tauscht mit D₂O aus); 4.92 (d, 1-H); 5.02 (s, 1-H); 5.07-5.49 (mk, =CH₂); 5.62-6.18 (mk, =CH-).

$J_{1,2} = 4.5 \text{ Hz}$.

Integrationsverhältnis: 2:0.97:2.03:7:0.33:0.67:2:1.

Die Anomeren liegen im Verhältnis $\alpha:8 = 1:2$ vor.

Isoliert (ND-SC: A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 5:1:1) und eindeutig charakterisiert wurde die β -Verbindung 28b:

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, COSY, ¹H-¹³C-Korrelation; $\delta = 2.94$ -3.05 (d, breit, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 3.77-3.88 (s, breit, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 3.86 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.98 (s, 1H, 2-H); 3.98-4.06 (s, breit, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 3.97 und 4.17 (mk, 2H, CH₂); 4.08 (d, breit, 1H, 3-H, nach Austausch mit D₂O: s, breit, 1H); 4.41 (d, 1H, 5-H); 4.44 (t, 1H, 4-H); 5.03 (s, 1H, 1-H); 5.17 (m, 1H, =CH₂(cis)); 5.23 (m, 1H, =CH₂(trans)); 5.80-5.90 (m, 1H, =CH-).
 $J_{3,4} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.8 \text{ Hz}$, $J_{3,\text{OH}} = 9.0 \text{ Hz}$.
Allylgruppe =CH₂: $|J_{\text{AB}}| = 3.2 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{cis}} = 10.5 \text{ Hz}$,
 $^3J_{\text{trans}} = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

¹³C-NMR: 100.6 MHz, CDCl₃, DEPT; $\delta = 53.22$ (CO₂CH₃), 68.25 (CH₂), 70.19 (C-5), 78.15 (C-3), 78.71 (C-2), 87.28 (C-4), 107.93 (C-1), 117.69 (=CH₂), 133.47 (=CH-), 172.25 (CO₂).

IR: CHCl_3 ; 3640-3140 (OH), 1745 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 497$ (4.2, $[\text{2M+H}]^+$),
439 (3.8, $[\text{2M+H-AllOH}]^+$), 381 (11, $[\text{M+Cs}]^+$), 330
(12), 327 (13), 271 (12), 249 (19, $[\text{M+H}]^+$), 191 (100,
 $[\text{M+H-AllOH}]^+$), 173 (34, $[\text{191-H}_2\text{O}]^+$), 157 (24), 155
(40, $[\text{191-2H}_2\text{O}]^+$), 145 (18), 131 (38), 113 (37), 101
(31).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_7$ (248.2) Gef. 249 ($[\text{M+H}]^+$, FIB-MS)

Umsetzung von 17 mit Allylalkohol

a) 530 mg (2.50 mmol) D-Galakturonsäuremonohydrat (17) und ca.
0.5 g Dowex-50 W-X2 (H^+ -Form, 100-200 mesh) wurden in 2 ml
absol. Allylalkohol bei 85°C 15 h gerührt. Das Dowex-Harz wurde
abfiltriert, mit Methanol gewaschen, und die vereinigten Fil-
trate wurden eingeeengt. ND-SC (B-Säule, Petrolether/Trichlor-
methan/Ethanol 12:1:1) ergab:

42 mg (7 %) 26a (farbloser Sirup)
137 mg (20 %) 26b (farbloser Sirup)
187 mg (28 %) 27 (farbloser Sirup)

b) 6.00 g (28.3 mmol) 17 in 60 ml absol. Allylalkohol wurden
mit ca. 1.8 g Dowex-50 W-X2 (H^+ -Form, 100-200 mesh) bei 80°C 46
h gerührt. Das Dowex-Harz wurde abfiltriert, mit Methanol gewa-
schen, und die vereinigten Filtrate wurden eingeeengt. Das durch
ND-SC isolierte 26 wurde erneut mit Allylalkohol und Dowex-50

W-X2 (H^+ -Form) umgesetzt. Dieser Vorgang wurde noch einmal wiederholt. Gesamtausb. nach drei Cyclen:

0.30 g (5 %) 26

3.45 g (56 %) 27a und 27b

27 fiel als brauner Sirup an, der, in über CaH_2 getrocknetem Diethylether erhitzt, als farbloser Feststoff ausfiel (2 g/15 ml). Die ND-SC (B-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 7:1:1) wurde mit 200 mg 27 durchgeführt und ergab:

144 mg 27a

40 mg 27b

Allyl(allyl- α -D-galaktofuranosid)uronat (26a)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$, 1H - ^{13}C -Korrelation; s. Tab. 6

^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $CDCl_3$, DEPT; s. Tab. 6

IR: $CHCl_3$; 3640-3130 (OH), 1740 cm^{-1} (CC).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 549$ (2.0, $[2M+H]^+$), 491 (22, $[2M+H-AlloH]^+$), 433 (6.8, $[2M+H-2AlloH]^+$), 407 (3.2), 367 (1.0, $[M+H+Gly]^+$), 353 (1.3), 275 (14, $[M+H]^+$), 217 (100, $[M+H-AlloH]^+$), 199 (13, $[M+H-AlloH-H_2O]^+$), 181 (14, $[M+H-AlloH-2H_2O]^+$), 159 (7, $[M+H-2AlloH]^+$), 141 (17, $[M+H-2AlloH-H_2O]^+$).

$C_{12}H_{18}O_7$ (274.3) Ber. C 52.55 H 6.62

Gef. C 52.63 H 6.65

Allyl(allyl-β-D-galaktofuranosid)uronat (26b)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 , ^1H - ^{13}C -Korrelation; s. Tab. 6

$^{13}\text{C-NMR}$: 100.6 MHz, CDCl_3 , DEPT; s. Tab. 6

IR: CHCl_3 ; 3640-3200 (OH), 1750 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 550 (0.6), 492 (0.6), 434 (2.0), 357 (1.5), 297 (3.2), 275 (4.8, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 259 (1.7), 217 (34, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$), 199 (6, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{H}_2\text{O}]^+$), 181 (7, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-2\text{H}_2\text{O}]^+$), 141 (3, $[\text{M}+\text{H}-2\text{AlloH}-\text{H}_2\text{O}]^+$).

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (274.3) Ber. C 52.55 H 6.62

Gef. C 52.61 H 6.71

Allyl(allyl-α-D-galaktopyranosid)uronat (27a)

Schmp.: 112-113.5°C (Trichlormethan/Petrolether)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 , ^1H - ^{13}C -Korrelation; s. Tab. 6

$^{13}\text{C-NMR}$: 100.6 MHz, CDCl_3 , DEPT; s. Tab. 6

IR: CHCl_3 ; 3640-3130 (OH), 1760 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 549 (2.5, $[\text{2M}+\text{H}]^+$), 491 (1.7, $[\text{2M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$), 433 (4.2, $[\text{2M}+\text{H}-2\text{AlloH}]^+$),

353 (6.6), 275 (18, $[M+H]^+$), 217 (100, $[M+H-AllOH]^+$),
199 (10, $[M+H-AllOH-H_2O]^+$), 181 (9, $[M+H-AllOH-2H_2O]^+$),
171 (11), 159 (5, $[M+H-2AllOH]^+$), 157 (10).

$C_{12}H_{18}O_7$ (274.3) Ber. C 52.55 H 6.62

Gef. C 52.66 H 6.65

Allyl(allyl-8-D-galaktopyranosid)uronat (27b)

Schmp.: 137-139°C (Trichlormethan/Petrolether)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$, 1H - ^{13}C -Korrelation; s. Tab. 6

^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $CDCl_3$, DEPT; s. Tab. 6

IR: $CHCl_3$; 3630-3130 (OH), 1760 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 549$ (0.7, $[2M+H]^+$),
491 (0.9, $[2M+H-AllOH]^+$), 433 (2.1, $[2M+H-2AllOH]^+$),
407 (5), 297 (5), 275 (15, $[M+H]^+$), 217 (100, $[M+H-AllOH]^+$),
199 (14, $[M+H-AllOH-H_2O]^+$), 181 (12, $[M+H-AllOH-2H_2O]^+$),
171 (12), 159 (6, $[M+H-2AllOH]^+$), 145 (14).

$C_{12}H_{18}O_7$ (274.3) Ber. C 52.55 H 6.62

Gef. C 52.54 H 6.70

Acetylierung von 26a, 26b, 27a und 27b

26a, 26b und das Anomerengemisch 27a,b wurden mit Essigsäureanhydrid/Pyridin acetyliert⁶³⁾.

Ausb.: 100 % 30a
 99 % 30b
 96 % 31a,b

ND-SC (Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 10:1:1) von 31a,b ergab:

57 % 31a
34 % 31b

Allyl(allyl-2,3,5-tri-O-acetyl- α -D-galaktofuranosid)uronat
(30a)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, COSY; s. Tab. 7

IR: CHCl₃; 1745 cm⁻¹ (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 533 (0.11, [M+Cs]⁺), 459 (0.34), 401 (0.65, [M+H]⁺), 343 (6.0, [M+H-Al1OH]⁺), 325 (1.5, [M+H-Al1OH-H₂O]⁺), 283 (2.0, [M+H-Al1OH-AcOH]⁺), 243 (5.0), 225 (2.0), 223 (7.5, [M+H-Al1OH-2AcOH]⁺), 185 (2.0), 183 (3.5), 181 (4.5).

C₁₈H₂₄O₁₀ (400.4) Ber. C 54.00 H 6.04
 Gef. C 53.93 H 5.97

Allyl(allyl-2,3,5-tri-O-acetyl-8-D-galaktofuranosid)uronat

(30b)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 , COSY; s. Tab. 7

IR: CHCl_3 ; 1745 cm^{-1} (CO).

FAB-MS: (Matrix: Glycerin); $m/z(\%) = 401$ (3, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 377 (2), 361 (4, $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_4]^+$), 345 (6), 343 (10, $[\text{M}-\text{AlloH}]^+$), 317 (5, $[\text{377-AcOH}]^+$), 303 (18, $[\text{361-AlloH}]^+$), 301 (25, $[\text{343-CH}_2\text{CO}]^+$), 261 (10, $[\text{303-CH}_2\text{CO}]^+$), 259 (25, $[\text{343-2CH}_2\text{CO}]^+$), 243 (21, $[\text{303-AcOH}]^+$), 223 (23), 185 (36, $[\text{243-AlloH}]^+$), 183 (24, $[\text{243-AcOH}]^+$), 181 (25, $[\text{223-CH}_2\text{CO}]^+$), 155 (14), 141 (25, $[\text{183-CH}_2\text{CO}]^+$), 127 (17), 115 (18).

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ (400.4) Ber. C 54.00 H 6.04
Gef. C 54.04 H 6.09

Allyl(allyl-2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-galaktopyranosid)uronat

(31a)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 , COSY; s. Tab. 7

IR: CHCl_3 ; 1745 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 401$ (3, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 343 (73, $[\text{M}+\text{H-AlloH}]^+$), 243 (13), 241 (6), 223 (26, $[\text{M}+\text{H-AlloH-2AcOH}]^+$), 199 (7), 181 (100), 153

(32), 137 (28, $[M+H-Al1OH-CO_2All-2AcOH]^+$).

$C_{18}H_{24}O_{10}$ (400.4) Ber. C 54.00 H 6.04
Gef. C 53.86 H 6.10

Allyl(allyl-2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-galaktopyranosid)uronat
(31b)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$, COSY; s. Tab. 7

IR: $CHCl_3$; 1745 cm^{-1} (CO).

FAB-MS: (Matrix: Glycerin); $m/z(\%) = 393$ (18), 362 (5), 344
(13), 343 (100, $[M+H-Al1OH]^+$), 326 (6), 303 (29),
301 (9).

$C_{18}H_{24}O_{10}$ (400.4) Ber. C 54.00 H 6.04
Gef. C 53.94 H 6.10

Umesterung eines Gemisches von 27a und 27b

140 mg (511 μ mol) Allyl(allyl-D-galaktopyranosid)uronat (27) in
2.50 ml absol. Methanol wurden bei Raumtemp. mit 2.00 ml
Natriummethanolatlösung (30 mg Natrium in 20 ml absol. Metha-
nol) gerührt. DC zeigte nach 5 min vollständige Umsetzung. Nach
30 min wurden ca. 0.5 g Dowex-50 W-X2 (H^+ -Form, 100-200 mesh)
zugegeben und bis zur Neutralisation (pH-Papier) gerührt. Das
Dowex-Harz wurde abfiltriert, mit Methanol gewaschen, und die

vereinigten Filtrate wurden eingengt. ND-SC (A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:1) ergab:

7 mg (5 %) 27
78 mg (62 %) 29a
22 mg (18 %) 29b

Methyl(allyl- α -D-galaktopyranosid)uronat (29a)

Schmp.: 119-121°C (Trichlormethan/Petrolether, farblose Nadeln)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$; s. Tab. 8

$^{13}\text{C-NMR}$: 100.6 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$, DEPT; s. Tab. 8

IR: CHCl_3 ; 3640-3100 (OH), 1760 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 745 (0.6, [3\text{M}+\text{H}]^+)$,
497 (5.0, $[2\text{M}+\text{H}]^+$), 439 (3.3, $[2\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$), 381
(7.8), 341 (2.9), 327 (1.7), 249 (22, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 191
(100, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$), 173 (21, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{H}_2\text{O}]^+$),
155 (17, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-2\text{H}_2\text{O}]^+$), 145 (9), 131 (18), 119
(20).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_7$ (248.2) Ber. C 48.39 H 6.50
Gef. C 48.48 H 6.48

Methyl(allyl-β-D-galaktopyranosid)uronat (29b)

Schmp.: 157-159°C (Trichlormethan/Petrolether, farblose
Nadeln)

¹H-NMR: 400 MHz, [D₅]Pyridin; s. Tab. 8

¹³C-NMR: 100.6 MHz, [D₅]Pyridin, DEPT; s. Tab. 8

IR: CHCl₃; 3640-3100 (OH), 1760 cm⁻¹ (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 745 (0.5, [3M+H]⁺),
497 (3.6, [2M+H]⁺), 439 (2.6, [2M+H-Al1OH]⁺), 381
(4.7), 341 (5.3), 327 (2.4), 249 (29, [M+H]⁺), 191
(100, [M+H-Al1OH]⁺), 173 (20, [M+H-Al1OH-H₂O]⁺),
155 (18, [M+H-Al1OH-2H₂O]⁺), 145 (10), 131 (18), 113
(22).

C₁₀H₁₆O₇ (248.2) Ber. C 48.39 H 6.50
Gef. C 48.40 H 6.43

Einführung der Isopropylidenschutzgruppe

930 mg (3.75 mmol) Methyl(allyl-α-D-galaktopyranosid)uronat
(29a) und 9.50 g wasserfreies Kupfersulfat wurden in 100 ml
absol. Aceton bei Raumtemp. gerührt. Nach 4 d wurde das
Kupfersulfat abzentrifugiert und mit Aceton gewaschen. Die
vereinigten Acetonlösungen wurden eingengt.

Ausb. 1.05 g (97 %) farbloser Feststoff 32a.

Methyl(allyl-3,4-O-isopropyliden- α -D-galaktopyranosid)uronat
(32a)

Schmp.: 96-97.5°C (Ethanol)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 1.31 (s, 3H, CCH_3); 1.46 (s, 3H, CCH_3); 3.79 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.83-4.70 (mk, 7H, allyl. H, 4 Ringprotonen, OH); 5.01 (d, 1H, 1-H); 5.08-5.42 (mk, 2H, $=\text{CH}_2$); 5.65-6.16 (m, 1H, $=\text{CH}-$).
 $J_{1,2} = 3.5$ Hz.

IR: CHCl_3 ; 3640-3140 (OH), 1760 cm^{-1} (CO).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 381 (4.5, $[\text{M}+\text{Gly}+\text{H}]^+$), 327 (18), 249 (24, $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$), 191 (83, $[\text{249}-(\text{CH}_3)_2\text{CO}]^+$), 173 (19, $[\text{191}-\text{H}_2\text{O}]^+$), 157 (26), 155 (17, $[\text{191}-2\text{H}_2\text{O}]^+$), 131 (12), 119 (16), 93 (100).

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_7$ (288.3) Ber. C 54.16 H 6.99

Gef. C 54.21 H 6.89

5.3 Herstellung der 8-glycosidisch verknüpften Disaccharide

5.3.1 Umsetzung von 29a

mit Oxazolin 24 unter p-Toluolsulfonsäure-Katalyse

a) 100 mg (403 μmol) 29a wurden in 2.5 ml einer 0.16 M Lösung des Oxazolins 24 (400 μmol) in absol. Toluol/Nitromethan (1:1) gerührt. Nach Zugabe von 0.6 ml einer 0.039 M Lösung wasserfreier p-TsOH (23.4 μmol) in absol. Toluol wurde auf 70°C erwärmt. Nach 24 h wurden weitere 2.5 ml 0.16 M Oxazolinlösung 24 (400 μmol) und 0.4 ml 0.039 M p-TsOH-Lösung (15.6 μmol) zugesetzt. Nach 8 h erfolgte erneute Zugabe von 2.5 ml 0.16 M Oxazolinlösung 24 (400 μmol). Nach weiteren 2 d Reaktionszeit wurden 0.1 ml absol. Pyridin zugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 0.5 h gerührt und anschließend nach Toluolzusatz eingengt. ND-SC (B-Säule, Methanol/Trichlormethan 1:15) ergab 56 mg (24 %) 34a, 55 mg (24 %) 33a und 3 mg (4 %) Edukt 29a.

b) 100 mg (403 μmol) 29a wurden mit 5.0 ml einer 0.16 M Lösung des Oxazolins 24 (800 μmol) in Toluol/Nitromethan (1:1) gerührt. Nach Zugabe von 0.6 ml einer 0.039 M p-TsOH-Lösung (23.4 μmol) in absol. Toluol wurde auf 70°C erwärmt. Es wurde nach 21 h wie oben aufgearbeitet. Folgende Substanzenmengen wurden isoliert:

75 mg (33 %) 34a, 84 mg (36 %) 33a und 28 mg (28 %) Edukt 29a.

Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-α-D-galaktopyranosid]uronat (33a)

Schmp.: 240-243°C (EtOH, feine farblose Nadeln)

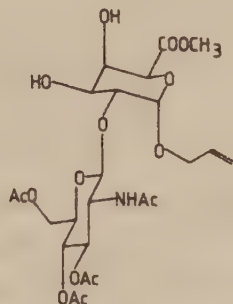
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, COLOC,
¹H-¹H- und ¹H-¹³C-Korre-
 lation; s. Tab. 9

¹³C-NMR: 100.6 MHz, DEPT; s. Tab. 9

IR: CHCl₃; 3630-3150 (OH, NH),
 1745 (CO), 1675 (Amid I), 1530 cm⁻¹ (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 578 (4.3, [M+H]⁺),
 520 (0.8, [M+H-AlloH]⁺), 502 (2.3, [M+H-AlloH-H₂O]⁺),
 484 (2.8, [M+H-AlloH-2H₂O]⁺), 460 (3.1), 330 (84,
 [E]⁺), 288 (4, [E-CH₂CO]⁺), 270 (7, [E-AcOH]⁺), 228
 (11, [270-CH₂CO]⁺), 210 (42, [E-2AcOH]⁺), 168 (94,
 [210-CH₂CO]⁺), 150 (100, [E-3AcOH]⁺), 126 (60), 108
 (74, [150-CH₂CO]⁺).

C₂₄H₃₅N₁O₁₅ (577.5) Ber. C 49.91 H 6.11
 Gef. C 49.86 H 6.10

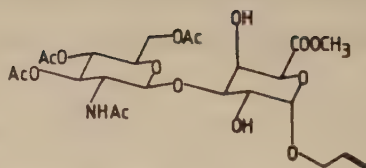


Methyl[allyl-3-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-α-D-galaktopyranosid]uronat (34a)

Schmp.: 214.5-218°C (EtOH, farblos)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; s. Tab. 9

$^{13}\text{C-NMR}$: 100.6 MHz, CDCl_3 , DEPT;
s. Tab. 9



IR: CHCl_3 ; 3630-3150 (OH, NH), 1745 (CO), 1675 (Amid I),
1520 cm^{-1} (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 578 (3.3, $[\text{M}+\text{H}]^+$),
520 (2.3, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$), 436 (3.0), 330 (82, $[\text{E}]^+$),
288 (8, $[\text{E}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 270 (8, $[\text{E}-\text{AcOH}]^+$), 228 (12,
 $[\text{270}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 210 (46, $[\text{E}-2\text{AcOH}]^+$), 168 (96, $[\text{210}-$
 $\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 150 (100, $[\text{E}-3\text{AcOH}]^+$), 126 (54), 108 (68,
 $[\text{150}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$).

$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_1\text{O}_{15}$ (577.5) Ber. C 49.91 H 6.11
Gef. C 49.87 H 6.15

mit dem Bromid 21a

40 mg (161 μmol) 29a, 35 mg (140 μmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und 52 mg (144 μmol) HgBr_2 in 0.4 ml absol. Dichlormethan wurden mit 210 mg (514 μmol) 21a in 1.0 ml absol. Dichlormethan versetzt. Nach 3 d bei 40°C wurden erneut 210 mg (514 μmol) 21a in 1.0 ml absol. Dichlormethan zugefügt. Nach weiteren 3 d bei 40°C wurde der Feststoff abfiltriert und das Filtrat mit 4 ml gesätt. Natriumsulfid-Lösung extrahiert. Die wäßr. Phase wurde 3mal mit je 5 ml Trichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen

wurden über Na_2SO_4 getrocknet und eingeengt. ND-SC (B-Säule, Methanol/Trichlormethan 1:15) ergab 49 mg (53 %) 34a, 32 mg (35 %) 33a und 0.5 mg (2 %) Edukt 29a.

5.3.2 Umsetzung von 32a

mit Oxazolin 24 unter p-Toluolsulfonsäure-Katalyse

Entsprechend 5.3.1 wurden 19.5 mg (67.7 μmol) 32a mit überschüssiger Oxazolinlösung 24 in Toluol/Nitromethan in Gegenwart von p-TsOH umgesetzt. Es entstand nur wenig 35a mit Spuren an (B1 $\rightarrow$ 2)- und (B1 $\rightarrow$ 3)-verknüpften Disacchariden ohne Isopropylidengruppe (DC-Vergleich).

Eine Wiederholung dieser Umsetzung unter Zugabe von Molekularsieb 3 A brachte keine deutliche Verbesserung. Da das Molekularsieb als Protonenfänger wirkte, mußte die p-TsOH-Zugabe erhöht werden, bis eine Reaktion stattfand.

mit dem Bromid 21a

In einem 10 ml-Injektionsgefäß wurden 49.9 mg (173 μmol) 32a, 72 mg (288 μmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und 110 mg (305 μmol) HgBr_2 in 0.5 ml absol. Dichlormethan mit einer Lösung von 210 mg (514 μmol) 21a in 1.6 ml absol. Dichlormethan versetzt. 1.5 d wurde bei 40°C gerührt. Nach erneuter Zugabe von 30 mg (120 μmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und 40 mg (111 μmol) HgBr_2 in 0.5 ml absol. Dichlormethan und anschließendem Zusatz von 315 mg (771 μmol) 21a in 2.0 ml

absol. Dichlormethan wurden weitere 5 d bei 40°C gerührt. Dann wurde die Reaktionsmischung entsprechend 5.3.1 aufgearbeitet. ND-SC (B-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:1) ergab 105 mg (98 %) 35a.

Die Reproduktion dieses Experimentes mit 1.00 g (347 mmol) 32a - in einer Glasapparatur bestehend aus Kolben, Kühler, Trockenrohr - mißlang:

Isoliert wurden ca. 4 % 35a und 17 % (bezogen auf das im Überschuß eingesetzte Bromid 21a) Oxazolin 24 bei 40 % Umsatz nach 16 d Reaktionszeit.

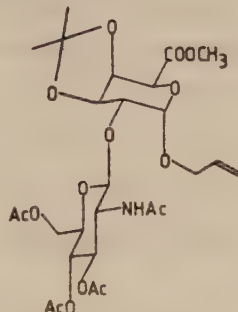
mit Oxazolin 24 unter Camphersulfonsäure-Zugabe

550 mg (1.91 mmol) 32a in 3.0 ml absol. Dichlormethan wurden in einem Druckgefäß mit Molekularsieb 4 Å (ca. 30 mg) und 1.40 g (4.27 mmol) Oxazolin 24 in 5.0 ml absol. Dichlormethan versetzt. Nach Zugabe von 0.58 g (2.53 mmol) wasserfreier Camphersulfonsäure in 11.0 ml absol. Dichlormethan wurde die Reaktionsmischung 20 h bei 60°C gerührt. Nach erneuter Zugabe von 560 mg (1.71 mmol) 24 in 2.0 ml absol. Dichlormethan und 6.5stdg. Rühren bei 60°C wurde die Reaktionsmischung mit 1.0 ml absol. Pyridin versetzt und 0.5 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Filtrieren wurde der Rückstand mit Toluol gewaschen, und die vereinigten Filtrate wurden eingeeengt. ND-SC (C-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:1) ergab 0.82 g (70 %) 35a und 58 mg (11 %) Edukt 32a.

Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3,4-O-isopropyliden- α -D-galaktopyranosid]uronat
(35a)

Schmp.: 232-233°C (EtOH, feine farblose Nadeln)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 1.30 (s, 3H, CCH_3); 1.46 (s, 3H, CCH_3); 1.90 (s, 3H, NHAc); 2.00 (s, 3H, OAc); 2.01 (s, 3H, OAc); 2.05 (s, 3H, OAc); 3.79 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.50-3.89 (m, 1H, 5-H^E); 4.00-4.51 (mk, 8H); 4.57-5.43 (mk, 7H, darin $=\text{CH}_2$); 5.52-6.10 (mk, 2H, $=\text{CH-}$ und NH).



IR: CHCl_3 ; 3620-3180 (NH), 1740 (CO), 1680 (Amid I), 1530 cm^{-1} (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 618 (6.0, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 576 (2.1, $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 560 (3.8, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$ oder $[\text{M}+\text{H}-(\text{CH}_3)_2\text{CO}]^+$), 558 (1.8, $[576-\text{H}_2\text{O}]^+$), 502 (2.0, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-(\text{CH}_3)_2\text{CO}]^+$), 414 (2.3), 404 (4.0), 330 (100, $[\text{E}]^+$), 288 (16, $[\text{M}+\text{H}-\text{E}]^+$ od. $[\text{E}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 272 (15), 270 (14, $[\text{E}-\text{AcOH}]^+$), 250 (22), 228 (25, $[\text{270}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 210 (64, $[\text{E}-2\text{AcOH}]^+$).

$\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_1\text{O}_{15}$ (617.6) Ber. C 52.51 H 6.37
Gef. C 52.42 H 6.38

5.3.3 Abspaltung der Isopropylidengruppe

0.81 g (1.31 mmol) 35a wurden 0.5 h in 20proz. wäßr. Essigsäure auf 100°C erhitzt. Dann wurde die Reaktionslösung 6mal mit je 50 ml Dichlormethan und 6mal mit je 50 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, nach Toluolzugabe eingeeengt und im Hochvakuum getrocknet. Ausb.: 0.75 g (99 %) 33a.

5.4 Reaktionen der Disaccharide

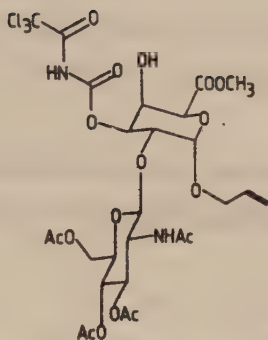
5.4.1 Einführung der Carbamoylgruppe

31.6 mg (54.8 μmol) 33a wurden in 0.3 ml absol. Dichlormethan gelöst und bei -40°C mit 6.5 μl (54.7 μmol) Trichloracetylisocyanat gerührt. Nach 15 min wurde auf Raumtemp. erwärmt und 0.1 ml absol. Methanol zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung eingeeengt. ND-SC (A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1) ergab 41 mg (98 %) 36a (enthält aufgrund des ^1H -NMR-Spektrums etwa 20 % Verunreinigung, vgl. auch Diskussion in 2.4.1).

Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3-O-trichloracetylcarbamoyl- α -D-galaktopyranosid]luronat (36a)

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 , COSY; s. Tab. 10

IR: CHCl_3 ; 3630-3100 (OH, NH), Cl_3C
 1795 (COCCl_3), 1740 (CO),
 1675 (Amid I), 1500 cm^{-1}
 (Amid II).



FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin);
 $m/z(\%) = 765 (36, [\text{M}+\text{H}]^+)$,
 621 (37), 579 (19), 563

(21), 502 (42, $[\text{M}+\text{H}-\text{Cl}_3\text{CCONHCO}_2-\text{AcOH}]^+$ oder $[\text{M}+\text{H}-\text{Cl}_3\text{CCO}-\text{AlloH}-\text{AcOH}]^+$), 484 (41, $[502-\text{H}_2\text{O}]^+$), 460
 (100, $[502-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 442 (23, $[502-\text{AcOH}]^+$), 402
 (22), 382 (18, $[502-2\text{AcOH}]^+$).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 330 (42, [\text{E}]^+)$,
 210 (35, $[\text{E}-\text{AcOH}]^+$), 169 (100), 150 (98, $[\text{E}-2\text{AcOH}]^+$), 138 (46), 126 (78), 103 (99).

$\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_{17}$ (765.9) Gef. 765 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, FIB-MS)

Abspaltung der Trichloracetylgruppe mit Aluminiumoxid

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

20 μmol Disaccharid (36a bzw. 38a) wurden in 2.5 ml absol. Dichlormethan gelöst, auf 3.5 g Aluminiumoxid - neutral, Akt. II - aufgetragen; dann wurde kurz evakuiert. Nach 15 min wurde das Aluminiumoxid mit Dichlormethan und anschließend mit Methanol gewaschen bis die DC zeigte, daß das Filtrat keine Substanz mehr enthielt. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand

durch ND-SC (A-Säule kurz, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1) gereinigt.

Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl- α -D-galaktopyranosid]uronat (37a)

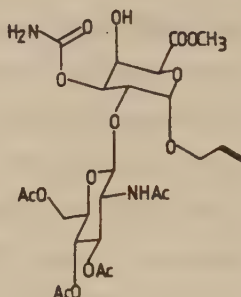
Reaktionszeit 5 min

Ausb.: 50 % 37a, 27 % Edukt 36a

Schmp.: 214.5-215.5°C (EtOH,
feine farblose Nadeln)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 1.91$
(s, 3H, NHAc); 2.01 (s,
6H, OAc); 2.06 (s, 3H, OAc); 3.35-3.95 (mk, 5H),
darin 3.79 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.95-4.32 (mk, 5H);
4.41-4.74 (mk, 2H); 4.85-5.55 (mk, 8H); 5.55-6.05
(m, 1H, =CH-); 6.19 (d, breit, 1H, NHAc).

$J_{\text{NH},2} = 8.0 \text{ Hz}$.



IR: CHCl_3 ; 3600-3240 (OH, NH), 1745 (CO), 1670 (Amid I),
1590, 1520 cm^{-1} (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 753 (2.5, [\text{M}+\text{Cs}]^+)$,
643 (6.6, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 621 (0.7, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 460 (0.7),
330 (24, $[\text{E}]^+$), 210 (18, $[\text{E}-2\text{AcOH}]^+$), 168 (49, $[\text{210}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$),
150 (39, $[\text{E}-3\text{AcOH}]^+$), 133 (100, $[\text{Cs}]^+$),
108 (35, $[\text{150}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$).

C₂₅H₃₆N₂O₁₆ (620.6) Ber. C 48.39 H 5.85

Gef. C 48.47 H 5.79

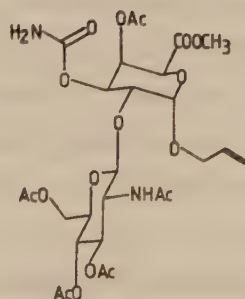
Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-4-O-acetyl-3-O-carbamoyl- α -D-galaktopyranosid]-uronat (39a)

Ausb.: 59 % 39a

Schmp.: 119-121°C (EE/PE, amorph, farblos)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; s. Tab. 10

¹³C-NMR: 100.6 MHz, CDCl₃, DEPT;
s. Tab. 10



IR: CHCl₃; 3600-3200 (NH), 1740 (CO), 1670 (Amid I),
1580, 1510 cm⁻¹ (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 795 (1.4, [M+Cs]⁺),
663 (2.9, [M+H]⁺), 621 (0.9, [M+H-CH₂CO]⁺), 605 (0.6,
[M+H-AlloH]⁺), 502 (0.7, [M+H-CH₂CO-AlloH-H₂NCO₂H]⁺),
484 (0.4), 460 (0.4), 370 (0.6), 330 (66, [E]⁺), 228
(10, [E-AcOH-CH₂CO]⁺), 210 (35, [E-2AcOH]⁺), 168 (91,
[210-CH₂CO]⁺), 150 (96, [E-3AcOH]⁺), 133 (100,
[Cs]⁺), 126 (59), 108 (86, [150-CH₂CO]⁺).

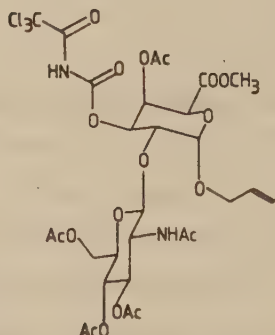
$C_{27}H_{38}N_2O_{17}$ (662.6) Ber. C 48.94 H 5.78
 Gef. C 49.00 H 5.72

5.4.2 Acetylierung von 36a

66.0 mg (80.2 μ mol) 36a und 35 mg (285 μ mol) DMAP in 1.65 ml absol. Pyridin wurden bei 0°C mit 1.65 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 1 h bei Raumtemp. wurde die Reaktionsmischung über eine Kieselgelsäule (1 g Kieselgel, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1) filtriert. Das Filtrat wurde mit 2 ml Ethanol versetzt und nach Toluolzusatz eingeeengt. ND-SC (A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:1) ergab 29.3 mg (42 %) 38a und 15.4 mg (24 %) 40a.

Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-4-O-acetyl-3-O-trichloroacetylcarbamoyl- α -D-galaktopyranosid]uronat (38a)

1H -NMR: 80 MHz, $CDCl_3$; δ = 1.84
 (s, 3H, NHAc); 2.01 (s,
 6H, OAc); 2.08 (s, 3H,
 OAc); 2.09 (s, 3H, OAc);
 3.40-4.30 (mk, 10H), darin
 3.76 (s, 3H, CO_2CH_3); 4.68
 (d, 1H, 5- H^F); 4.90-5.54
 (mk, 7H); 5.61-6.19 (mk, 4H, NHAc, =CH-, 4- H^F).
 $J_{4,5}$ = 1.5 Hz.



IR: CHCl_3 ; 3600-3250 (NH), 1800 (COCCl_3), 1745 (CO), 1670 (Amid I), 1490 cm^{-1} (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 806 (2.0, [\text{M}+\text{H}]^+)^*$, 662 (1.9, $[\text{M}+\text{H}-\text{Cl}_3\text{CCO}]^+$), 623 (1.2), 604 (1.0, $[\text{662}-\text{AlOH}]^+$), 552 (2.0), 461 (2.1), 376 (3), 369 (8), 348 (4), 332 (5, $[\text{662}-\text{E}]^+$), 330 (100, $[\text{E}]^+$).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 330 (29, [\text{E}]^+)$, 210 (14, $[\text{E}-2\text{AcOH}]^+$), 186 (100), 169 (36), 150 (37, $[\text{E}-3\text{AcOH}]^+$), 126 (26), 108 (32, $[\text{150}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$).

* Grenze des erfaßbaren Meßbereiches, wahrscheinlich $m/z = 807$.

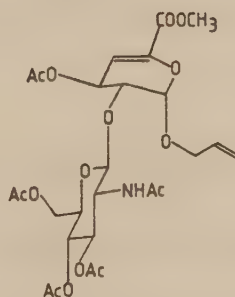
$\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_{18}$ (808.0) Gef. 662 ($[\text{M}+\text{H}-\text{Cl}_3\text{CCO}]^+$, FIB-MS)

Methyl[allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3-O-acetyl-4-desoxy-8-L-threo-hex-4-enpyranosid]uronat (40a)

Schmp.: 138-139.5°C (EE/PE,
farblos)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 , COSY;
s. Tab. 11

$^{13}\text{C-NMR}$: 100.6 MHz, CDCl_3 , DEPT;
s. Tab. 11



IR: CHCl_3 ; 3600-3220 (NH), 1740 (CO), 1675 (Amid I), 1505 cm^{-1} (Amid II).

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 602 (1.9, [M+H]^+)$,
 $560 (1.1, [M+H-CH_2CO]^+)$, $542 (1.0, [M+H-AcOH]^+)$, 484
 $(1.1, [542-AllOH]^+)$, $443 (1.0)$, $361 (0.9)$, $330 (66,$
 $[E]^+)$, $210 (32, [E-2AcOH]^+)$, $185 (39)$, $168 (94, [210-$
 $CH_2CO]^+)$, $150 (82, [E-3AcOH]^+)$, $138 (47)$, $126 (76)$,
 $108 (100, [150-CH_2CO]^+)$.

$C_{26}H_{35}N_1O_{15}$ (601.6) Ber. C 51.91 H 5.86
 Gef. C 52.00 H 5.83

230 mg (398 μ mol) 33a wurden entsprechend 5.4.1 mit Trichlor-
 acetylisocyanat umgesetzt. Eine Filtriersäule (4.5 g Kieselgel,
 Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1) ergab neben 36a ca.
 8 % 33a und ca. 4 % 37a. Das erhaltene 36a wurde sofort nach
 5.4.2 mit Essigsäureanhydrid/Pyridin/DMAP acetyliert. Die Reak-
 tionslösung wurde mit Essigester und Ethanol versetzt, ein-
 geengt und durch ND-SC (B-Säule, Petrolether/Trichlormethan/
 Ethanol 4:1:1) getrennt:
 152 mg (58 %) 39a und 60 mg (25 %) 40a.

5.4.3 Abspaltung der Allylgruppe

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

200 μ mol Disaccharid (35a, 37a, 39a) und 75 mg (373 μ mol) $PdCl_2$
 wurden bei Raumtemp. in 4.0 ml 0.1 M Natriumacetatlösung
 (Wasser/Essigsäure 1:20) gerührt. Nach 24 h wurden 5 ml

Essigester zugegeben. Die organische Phase wurde 2mal mit je 3 ml gesätt. NaHCO_3 -Lösung und 2mal mit je 3 ml Wasser ausgeschüttelt. Die vereinigten wäßr. Phasen wurden dann 8mal mit je 3 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, eingeeengt und durch ND-SC getrennt.

Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3,4-O-isopropyliden-D-galaktopyranuronat (42)

ND-SC (A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:1)

Ausb.: 83 % 42

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 1.30$
 (s, CCH_3); 1.47 (s, CCH_3);
 1.90-2.10 (NHAc- und OAc-Signale); 3.50-3.96 (mk),
 darin 3.80 (s, CO_2CH_3);
 4.08-4.58 (mk); 4.77-5.42
 (mk); 5.74 (d, NHAc); 5.79 (d, NHAc).

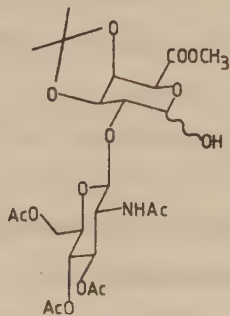
$J_{\text{NH},2} = 8.5 \text{ Hz}$.

Integrationsverhältnis: 3:3:12:6:5:5:ca.0.6:ca.0.4

IR: CHCl_3 ; 3620-3150 (OH, NH), 1745 (CO), 1685 (Amid I),
 1520 cm^{-1} (Amid II).

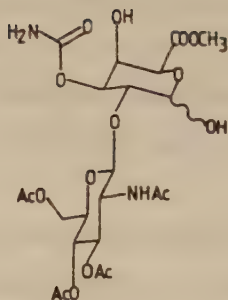
Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-D-galaktopyranuronat (44)

ND-SC (A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1.5)



Ausb. 31 % 44^{*}, 12 % 37a

¹H-NMR: 80 MHz, [D₅]Pyridin;
 δ = 1.93-2.18 (NHAc- und
OAc-Signale); 3.32-3.90
(mk), darin 3.63 (s,
CO₂CH₃); 3.99-4.57 (mk);
4.68-5.68 (mk); 5.68-6.02
(mk); 6.10 (d, vermutlich
1-H^F der α -Form, J_{1,2} = 3.5 Hz).
NHAc-Signale von Pyridin-Signalen überlagert.
Integrationsverhältnis: 12:4:4:8.4:2:0.63.



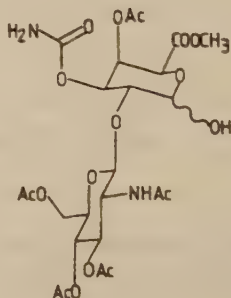
^{*} geringe Ausbeute aufgrund der hohen Polarität von 44

Methyl 2-O-(acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-4-O-acetyl-3-O-carbamoyl-D-galactopyranuronat (43)

ND-SC (A-Säule, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1.3)

Ausb.: 81 % 43, 6 % 39a

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; δ = 1.91
(s, NHAc); 2.00 (s,
OAc); 2.09 (s, OAc);
3.33-4.31 (mk), darin 3.71
(s, CO₂CH₃); 4.60-5.85
(mk); 6.31 (d, NHAc); 6.52
(d, NHAc).



J_{NH,2} = 8.5 Hz (gilt für beide Signale).

Integrationsverhältnis: 3:6:6:9:9:0.5:0.5.

IR: CHCl_3 ; 3610-3110 (OH, NH), 1730 (CO), 1665 (Amid I),
1580, 1515 cm^{-1} (Amid II).

5.5 Phosphorylierungsreaktionen

5.5.1 Phosphorsäurediesterbildung mit Disaccharid 42 und Neopentylalkohol (58) als Alkoholkomponenten

35.8 mg (518 μmol) 1,2,4-Triazol wurden in 0.30 ml absol. THF/
Pyridin (4:1) gelöst und mit 24.8 μl (124 μmol) 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (53) versetzt. Nach 20 min bei
0°C wurden 65.0 mg (113 μmol) 42 in 0.80 ml absol. THF zugespritzt. Nach 4 h zeigte die DC kein Edukt mehr. 12.2 mg (139
 μmol) Neopentylalkohol (58) in 0.55 ml absol. THF wurden hinzugefügt, und es wurde 1h bei 0°C weitergerührt. Die Reaktions-
mischung wurde im Argonstrom vom Lösungsmittel befreit und 45
min im Hochvakuum getrocknet. Zur Oxidation wurde in 1.20 ml
absol. Dichlormethan gelöst, mit 24 μl (114 μmol) 55 versetzt
und 12 h bei Raumtemp. gerührt. Das Dichlormethan wurde mit Ar-
gon abgeblasen. Die DC zeigte unter anderem die Rückbildung von
42. ND-SC (A-Säule, Petrolether/Essigester/Ethanol/Triethylamin
5:1:1:0.07) ergab 23 mg (23 %) 60a und 26 mg (41 %, 42). Die ND-
SC mit Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 7:1:1 führte zur
Reisolierung von 64 % 42.

Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-1-O-[(2,2-dimethyl-propyloxy)-(2-trichlormethyl-2-propyloxy)-phosphoryl]-3,4-O-isopropyliden- α -D-galaktopyranuronat (60a)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$;

$\delta = 0.94$ (s, 6H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$);

1.06 (s, 3H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$);

1.40 (s, 3H, Pr^{I}); 1.50 (s,

3H, Pr^{I}); 1.95-2.22 (mk,

18H, OAc, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$); 3.77

(s, 3H, CO_2CH_3); 3.93 und

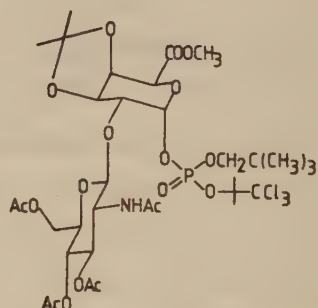
4.01 (2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ -Signale);

4.01-5.05 (mk, 7H, CH_2 - 6^{E} , Ringprotonen); 5.27-5.60

(mk, 3H, Ringprotonen); 5.71-6.04 (m, 1H, Ring-

proton); 6.45 (dd, 1H, 1-H^{F}); 9.33 (d, breit, 1H, NHAc).

$J_{1,2} = 3.2$ Hz, $J_{1,\text{P}} = 5.5$ Hz, $J_{\text{NH},2} = 9.0$ Hz.



IR: CHCl_3 ; 3650-3200 (NH), 1750 (CO), 1695 (Amid I), 1515 cm^{-1} (Amid II).

FAB-MS: (Matrix: Glycerin); $m/z(\%) = 886$ (3.4, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 728 (2.7, $[\text{M}+\text{H}-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3]^+$), 560 (14, $[\text{EF}]^+$), 518 (3, $[\text{EF}-\text{C}(\text{CH}_3)_2]^+$), 502 (7, $[\text{EF}-(\text{CH}_3)_2\text{CO}]^+$), 484 (5, $[\text{502}-\text{H}_2\text{O}]^+$), 460 (5, $[\text{502}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 330 (99, $[\text{E}]^+$), 278 (12), 270 (13, $[\text{E}-\text{AcOH}]^+$), 210 (45, $[\text{E}-2\text{AcOH}]^+$), 168 (86, $[\text{210}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 150 (100, $[\text{E}-3\text{AcOH}]^+$), 138 (36), 126 (57), 118 (38), 108 (65, $[\text{150}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$).

$C_{33}H_{51}Cl_3N_1O_{18}P_1$ (887.1) Gef. 886 ($[M+H]^+$, FAB-MS)

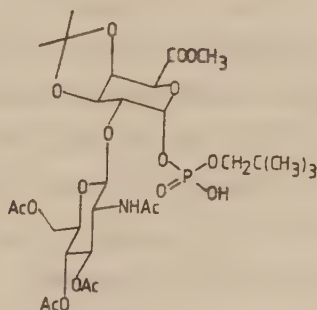
Abspaltung der 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe aus 60a

5.6 mg (6.3 μ mol) 60a und 4.2 mg Zink-Kupfer-Paar wurden mit 0.2 ml absol. Pyridin und 10 μ l 2,4-Pentandion versetzt, dann wurde 4 h bei Raumtemp. gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Essigester und Methanol gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden nach Toluolzugabe eingeeengt. SC (2.1 g Kieselgel, Essigester/Methanol/Triethylamin 5:1:0.5) ergab 6 mg (100 %) 61a.

Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-1-O-[(2,2-dimethylpropyloxy)-triethylammonium-oxido-phosphoryl]-3,4-O-isopropyliden- α -D-galaktopyranuronat (61a)

1 H-NMR: 400 MHz, $CDCl_3$; δ = 0.89 (s, 9H, $CH_2C(CH_3)_3$); 1.32 (s, 3H, Pr^i); 1.47 (s, 3H, Pr^i); 1.95 (s, 3H, NHAc); 2.00 (s, 6H, OAc); 2.06 (s, 3H, OAc); 3.49-3.57 (mk, 2H, $CH_2C(CH_3)_3$); 3.62-3.68 (m, 1H, Ringproton); 3.74-

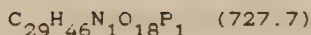
3.85 (m, 1H, Ringproton); 3.78 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.97-4.01 (m, 1H, Ringproton); 4.06 (1H, 6- H^E); 4.20 (1H, 6- H^E); 4.39 (dd, 1H, 3- H^F); 4.48 (dd, 1H, 4- H^F); 4.98 (t, 1H, 4- H^E); 4.99 (d, 1H, 5- H^F); 5.05 (d, 1H,



1-H^E); 5.26 (dd, 1H, 3-H^E); 5.65 (dd, 1H, 1-H^F); 6.52 (d, breit, 1H, NHAc).

Einheit F: $J_{1,2} = 3.2$ Hz, $J_{1,P} = 7.2$ Hz, $J_{2,3} = 7.5$ Hz, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, $J_{4,5} = 2.5$ Hz.

Einheit E: $J_{1,2} = 8.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{NH,2} = 8.0$ Hz, $J_{6,6'} = 12.0$ Hz, $J_{5,6} = 2.5$ Hz, $J_{5,6'} = 5.0$ Hz.



5.5.2 Phosphorsäurediesterbildung mit Disaccharid 42 bzw. 43 und dem Glycerinsäurederivat 16 als Alkoholkomponenten

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

a) 95.0 mg (1.37 mmol) 1,2,4-Triazol wurden in 1.50 ml absol. Dichlormethan/Pyridin (4:1) gelöst und bei 0°C mit 60.0 µl (300 µmol) 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (53) versetzt. Nach 10 min bei 0°C wurden 265 µmol Disaccharid (42 bzw. 43) in 1.35 ml absol. Dichlormethan zugespritzt. Nach 4stdg. Rühren bei 0°C wurden 216 mg (460 µmol) Alkohol 16 in 1.50 ml absol. Dichlormethan zugegeben. Nach 40 min und nach 110 min wurden jeweils 70.6 mg (150 µmol) 16 in je 0.3 ml absol. Dichlormethan nachgelegt. Nach 1 h wurde durch Zugabe von 80.0 µl (377 µmol) 55 oxidiert und langsam auf Raumtemp. erwärmt. Nach 15 h wurde die Reaktionslösung im Argonstrom eingeeengt. Die erhaltenen Phosphorsäuretriester wurden über eine Filtriersäule gereinigt.

Anschließend wurde mit 234 mg Zink-Kupfer-Paar und 272 μ l 2,4-Pentandion in 5.4 ml absol. Pyridin entsprechend 5.5.1 die 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe abgespalten. Die Phosphorsäurediester wurden durch ND-SC getrennt.

b) Nach der Filtriersäule wurde durch ND-SC getrennt, um die Triester rein zu isolieren.

c) Die reinen Phosphorsäuretriester wurden mit Zink-Kupfer-Paar, wie unter a) beschrieben, reduktiv gespalten.

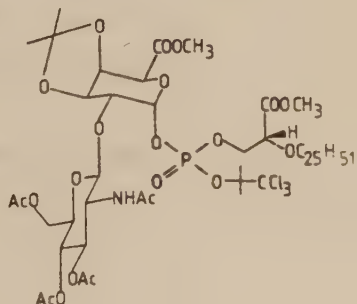
Phosphorsäurediester aus 42 und 16 unter Verwendung des Phosphylierungsmittels 54

Variante b:

ND-SC der Phosphorsäuretriester (B-Säule, Petrolether/Essigester/Ethanol/Triethylamin 7:1:1:0.08) ergab 20 % 63a und 12 % 63b.

Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3,4-O-isopropyliden-1-O-[(R)-2-methyloxycarbonyl-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-(2-trichloromethyl-2-propyloxy)-phosphoryl}- α -D-galaktopyranuronat (63a)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.77-1.00 (mk, 21H, I^*); 1.03-1.40 (mk, 28H, I); 1.36 (s, 3H, Acetonid- CH_3); 1.52 (s, 3H, Acetonid- CH_3); 1.89-2.00 (mk, 9H, NHAc, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$);



2.02 (s, 6H, OAc); 2.09 (s, 3H, OAc); 3.43-3.91 (mk, 10H), darin 3.78-3.83 (4s, 6H, CO₂CH₃); 3.91-4.60 (mk, 8H); 4.85-5.86 (mk, 5H); 5.95 (dd, 1H, 1-H^F).

$J_{1,2} = 3.3 \text{ Hz}$, $J_{1,P} = 6.2 \text{ Hz}$.

¹H-Signale aus dem I-Teil

C₅₇H₉₆Cl₃N₁O₂₁P₁ (1268.7)

Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3,4-O-isopropyliden-1-O-([(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-(2-trichloromethyl-2-propyloxy)-8-D-galaktopyranuronat (63b)

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; $\delta = 0.76-$

0.99 (mk, 21H, I); 1.03-

1.40 (mk, 28H, I); 1.34

(s, 3H, Acetonid-CH₃);

1.51 (s, 3H, Acetonid-CH₃);

1.90-2.11 (mk, 18H, NHAc,

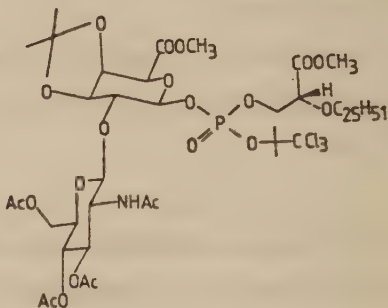
OAc, C(CH₃)₂CCl₃); 3.31-

3.85 (mk, 11H), darin 3.75-

3.83 (4s, 6H, CO₂CH₃); 3.90-5.80 (mk, 12H); 6.60 (d,

breit, 1H, NHAc).

$J_{\text{NH},2} = 8.0 \text{ Hz}$.



C₅₇H₉₆Cl₃N₁O₂₁P₁ (1268.7)

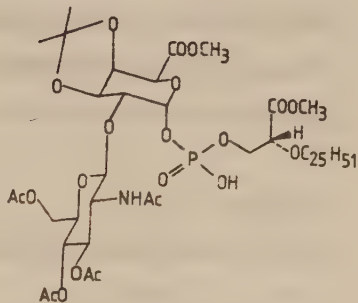
Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-3,4-O-isopropyliden-1-O-([(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl)-α-D-galaktopyranuronat (64a)

Variante c:

ND-SC (A-Säule kurz, Essigester/Methanol/Triethylamin 9:1:0.5)

Ausb.: 100 % 64a

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; δ = 0.70-0.99 (mk, 21H, I); 1.00-1.45 (mk, 28H, I); 1.31 (t, Et₃N⁺); 1.32 (s, 3H, Acetonid-CH₃); 1.49 (s, 3H, Acetonid-CH₃); 1.95 (s, 3H, NHAc); 2.00 (s, 6H, OAc); 2.05 (s, 3H, OAc); 3.03 (q, Et₃N⁺); 3.40-3.83 (mk, 10H), darin 3.72 (s, 3H, CO₂CH₃) und 3.79 (s, 3H, CO₂CH₃); 4.00-4.56 (mk, 7H); 4.82-5.48 (mk, 4H); 5.59 (dd, 1H, 1-H^F); 6.59 (d, 1H, NHAc).



$J_{1,2(F)} = 3.3 \text{ Hz}$, $J_{1,P(F)} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{NH,2} = 8.0 \text{ Hz}$.

¹³C-NMR: 100.6 MHz, [D₆]Aceton, DEPT; s. Tab. 12

IR: CHCl₃; 3600-3200 (NH), 1740 (CO), 1670 (Amid I), 1525 cm⁻¹ (Amid II).

FAB-MS: (Matrix: Glycerin); $m/z(\%) = 1154 (100, [M+2Na-H]^+)$,
 1132 (59, $[M+Na]^+$), 1110 (14, $[M+H]^+$), 1096 (32,
 $[1154-(CH_3)_2CO]^+$), 855 (13), 818 (9), 803 (14, $[M+$
 $Na+H-E]^+$), 802 (6), 702 (13, $[M+2Na-HI]^+$), 574 (4),
 573 (9, $[GHI+Na]^+$).

$C_{53}H_{91}N_1O_{21}P_1$ (1109.3) Gef. 1154 ($[M+2Na-H]^+$, FAB-MS)

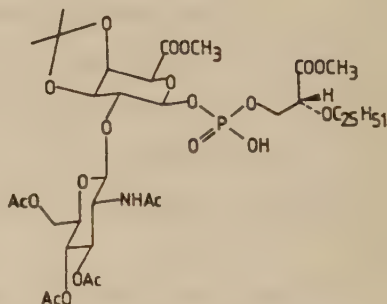
Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3,4-O-isopropyliden-1-O-[(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl)- β -D-galaktopyranuronat (64b)

Variante c:

ND-SC (A-Säule kurz, Essigester/Methanol/Triethylamin 9:1:0.5)

Ausb.: 100 % 64b

1H -NMR: 80 MHz, $CDCl_3$; $\delta = 0.72$ -
 0.96 (mk, 21H, I); 1.00-
 1.40 (mk, 28H, I), 1.22
 (t, Et_3N^+); 1.31 (s, 3H,
 Acetonid- CH_3); 1.47 (s,
 3H, Acetonid- CH_3); 1.93-
 2.05 (12H, NHAc- und OAc-
 Signale); 2.97 (q, Et_3N^+);
 3.15-4.00 (mk, 14H), darin 3.71 (s, 3H, CO_2CH_3) und
 3.79 (s, 3H, CO_2CH_3); 4.01-5.10 (mk, 6H); 5.37-5.92
 (mk, 2H); 6.26-6.59 (s, breit, 1H, $NHAc$).



IR: CHCl_3 : 3600-3230 (NH), 1740 (CO), 1670 (Amid I),
1545 cm^{-1} (Amid II).

MS: Mit Hilfe der FAB-Technik konnte kein Massenspektrum
aufgenommen werden.

$\text{C}_{53}\text{H}_{91}\text{N}_1\text{O}_{21}\text{P}_1$ (1109.3)

Ausführung der Phosphorylierungsreaktion nach Variante a (Filt-
riersäule, Petrolether/Essigester/Ethanol 2:1:1) gefolgt von
ND-SC (B-Säule, Essigester/Methanol/Triethylamin 10:1:0.4) er-
gab 22 % 64a, 11 % 64b und 36 % 42.

Phosphorsäurediester aus 43 und 16 unter Verwendung des Phos-
phitylierungsmittels 54

Variante a:

20 % 43 wurden bei der Reinigung der Phosphorsäuretriester 67
mittels einer Filtriersäule (Petrolether/Essigester/Ethanol/Tri-
ethylamin 3:2:1:0.02) reisoliert. SC (Essigester/Methanol/Tri-
ethylamin 7:1:0.3) der Phosphorsäurediester ergab 21 % 68a, 7 %
68b und 16 % 43.

Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-4-O-acetyl-3-O-carbamoyl-1-O-([(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl)-α-D-galaktopyranuronat (68a)

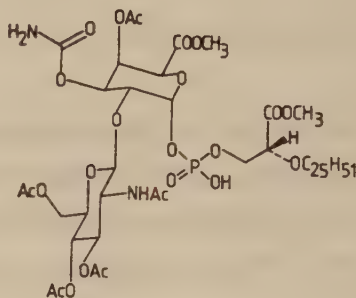
$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$,
COSY, ^1H - ^{13}C -Korrelation;
s. Tab. 13

$^{13}\text{C-NMR}$: 100.6 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$,
DEPT; s. Tab. 13

IR: CHCl_3 ; 3620-3220 (NH), 1745
(CO), 1670 (Amid I), 1590, 1540 cm^{-1} (Amid II).

FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin); $m/z(\%) = 1194 (8, [\text{M}+\text{K}]^+)$,
1178 (18, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 1156 (2, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 1136 (2), 1118
(2, $[\text{M}+\text{Na}-\text{AcOH}]^+$), 739 (4), 683 (3), 622 (2), 605
(5, $[\text{EF}]^+$), 590 (19), 573 (11, $[\text{GHI}+\text{Na}]^+$), 551 (4,
 $[\text{GHI}+\text{H}]^+$), 391 (2), 330 (100, $[\text{E}]^+$).

$\text{C}_{53}\text{H}_{91}\text{N}_2\text{O}_{23}\text{P}_1$ (1155.3) Gef. 1178 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, FAB-MS)



Methyl 2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-4-O-acetyl-3-O-carbamoyl-1-O-([(R)-2-methyl-oxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl)-β-D-galaktopyranuronat (68b)

¹H-NMR: 400 MHz, [D₅]Pyridin; in diesem Spektrum sind alle signifikanten ¹H-Signale doppelt vorhanden mit nur geringen Δδ-Werten. Die Integration der Signale stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur 68b überein. Das ¹H-NMR-Spektrum enthält die Signale für die Einheit I, die Acetylgruppen, einschließlich der NHAc-Gruppe bei 1.90 ppm. Dem Spektrum ist außerdem zu entnehmen, daß diese Verbindung als Triethylammoniumsalz vorliegt. Die Methylester lieferten Signale bei 3.68 ppm, 3.70 ppm und 3.73 ppm (Integrationsverhältnis 3:3:6). Die einzigen auffälligen, nicht eindeutig erklärbaren Signale liegen bei 5.58 ppm (d, J = 3.5 Hz) und 5.50 ppm (d, J = 3.5 Hz). Als weitere charakteristische Signale sollen erwähnt werden:

δ = 6.29 (dd, 1-H^F), 6.26 (dd, 1-H^F);

5.87 (dd, 3-H^F), 5.83 (dd, 3-H^F);

6.39 (dd, 4-H^F), 6.36 (dd, 4-H^F);

5.80 (dd, 3-H^E); 5.43 (dd, 4-H^E).

Die angegebenen Kopplungen gelten für beide Signalsätze.

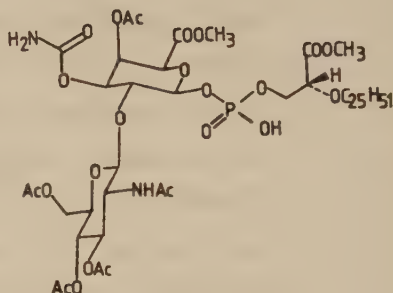
Einheit F: J_{1,2} = 8.5 Hz, J_{1,P} = 6.5 Hz, J_{2,3} = 11.0 Hz, J_{3,4} = 3.0 Hz, J_{4,5} = 1.0 Hz.

Einheit E: J_{2,3} = 10.0 Hz, J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 Hz.

^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$; dieses Spektrum weist alle für den Strukturvorschlag 68b erforderlichen ^{13}C -Signale auf. Die Lage der Signale stimmt mit denen aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 68a überein. Die meisten ^{13}C -Signale sind jedoch doppelt vorhanden mit $\Delta\delta$ -Werten kleiner 0.3. Das einzige auffällig unterschiedliche Signal liegt bei 99.92/99.81 ppm für das C-1 der Einheit F, das somit die B-Struktur bestätigt.

IR: CHCl_3 ; 3600-3140 (NH),
1750 (CO), 1665 (Amid I),
1590, 1550, 1505 cm^{-1}
(Amid II).

$\text{C}_{53}\text{H}_{91}\text{N}_2\text{O}_{23}\text{P}_1$ (1155.3)



5.6 Esterhydrolyse

25.5 mg (20.3 μmol) 68a in 2.35 ml absol. THF wurden bei 0°C mit 570 μl 0.29 M LiOH-Lösung (165 μmol) versetzt. Nach 90 min bei 0°C wurde Dowex-50 W-X2 (H^+ -Form, 100-200 mesh) zugegeben. Nach 30 min bei Raumtemp. wurde das Dowex-Harz abfiltriert und 3mal mit je 2ml Essigester und 3mal mit je 2 ml Methanol gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden eingeeengt und lyophilisiert. ND-SC (A-Säule, Trichlormethan/Methanol/Wasser 10:6:1) ergab 7 mg (32 %) 69a, 2 mg Mischfraktion und 13 mg (61 %) 13a. Die weitere Reinigung erfolgte am Adsorberharz HP-20

[(Wasser→Methanol)-Gradient] und durch Reversed-Phase-Chromatographie (Methanol/Wasser/Acetonitril 8:1:4) (Ausb. ca. 63 %).

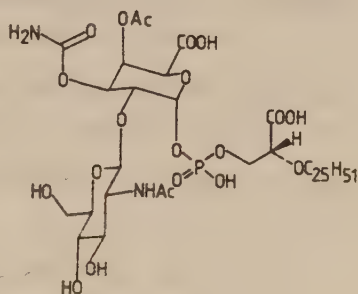
2-O-(2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-4-O-acetyl-3-O-carbamoyl-1-O-[[(R)-2-carboxy-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nona-decyloxy)-ethyloxy]-hydroxyphosphoryl]-α-D-galaktopyranuronsäure (69a)

^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$;
s. Tab. 4

FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin);
 $m/z(\%) = 1062$ (4, $[\text{M}+\text{R}+\text{Na}-\text{H}]^+$), 1046 (9, $[\text{M}+2\text{Na}-\text{H}]^+$), 1024 (5, $[\text{M}+\text{Na}]^+$),
 1002 (4, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 241 (100).

FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin); $m/z(\%) = 871$ (2.7), 746 (4.7), 744 (3.8), 597 (6, $[\text{GHI}+\text{K}+\text{Na}-\text{H}]^+$), 581 (9, $[\text{GHI}+2\text{Na}-\text{H}]^+$), 560 (9), 557 (4), 487 (4, $[\text{EF}+\text{Na}]^+$), 337 (15), 286 (16), 241 (100).

$\text{C}_{45}\text{H}_{81}\text{N}_2\text{O}_{20}\text{P}_1$ (1001.1) Gef. 1002 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, FAB-MS)



2-O-(2-Acetamido-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-1-O-
 {[(R)-2-carboxy-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyl-
 oxy]-hydroxyphosphoryl}-α-D-galaktopyranuronsäure (13)

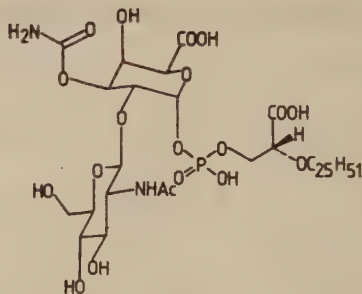
^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$;

s. Tab. 4

FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin);

$m/z(\%) = 1020$ (11, $\text{M}+\text{K}+\text{Na}-\text{H}^+$), 1004 (25, $[\text{M}+2\text{Na}-\text{H}]^+$), 998 (14, $[\text{M}+\text{K}]^+$), 982 (46, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 727

(10), 725 (27), 598 (17), 581 (30, $[\text{GHI}+2\text{Na}-\text{H}]^+$), 560 (73), 544 (12), 445 (20, $[\text{EF}+\text{Na}]^+$), 337 (58), 321 (68), 299 (100).



$\text{C}_{43}\text{H}_{79}\text{N}_2\text{O}_{19}\text{P}_1$ (959.0) Gef. 982 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, FAB-MS)

Auf den nachfolgenden Seiten werden in tabellarischer Form die Spektren einiger Verbindungen aufgeführt:

- Tabelle 6a: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 26a und 26b sowie 27a und 27b
- Tabelle 6b: ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 26a und 26b sowie 27a und 27b
- Tabelle 7: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 30a und 30b sowie 31a und 31b
- Tabelle 8: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 29a und 29b
- Tabelle 9: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 33a und 34a
- Tabelle 10: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 36a und die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindung 39a
- Tabelle 11: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindung 40a
- Tabelle 12: ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 64a
- Tabelle 13: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindung 68a
- Tabelle 14: Verzeichnis der Abkürzungen

Tabelle 6a ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **26a** und **26b** sowie **27a** und **27b**

	26a	26b	27a	27b
1-H	4.92 (d)	5.02 (s)	5.02 (d)	4.31 (d)
2-H	4.08 ^a	4.01 (d) ^a	3.89 (mk)	} 3.64-3.77 (mk)
3-H	4.40 (t, breit)	4.12 (t) ^a	3.89 (mk)	
4-H	4.19 (dd)	} 4.44	4.27 (dd)	4.27 (dd)
5-H	4.29 (dd)		4.40 (d)	4.12 (d)
OH	3.21 (s, breit)	3.31 (s, breit)		
	3.23 (d, breit)	4.10 (s, breit)	3.95-4.35	3.70-4.25
	3.76 (s, breit)	4.25 (s, breit)		

26a: $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 2.5 \text{ Hz}$, $J_{5,\text{OH}} = 9.0 \text{ Hz}$.

26b: $J_{2,3} = J_{3,4} = 0.8 \text{ Hz}$, $J_{4,5} < 1.5 \text{ Hz}$.

27a: $J_{1,2} = 3.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.0 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

27b: $J_{1,2} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.0 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

Allylgruppe

1-H	4.05	3.95	4.02	4.12
	4.63-4.73 (mk)	4.63-4.81 (mk)	4.63-4.67 (mk)	4.68-4.71 (mk)
1'-H	4.23	4.13	4.15	4.41
	4.63-4.73 (mk)	4.63-4.81 (mk)	4.63-4.67 (mk)	4.68-4.71 (mk)
2-H	5.84-5.96 (mk)	5.78-5.95 (mk)	5.79-5.93 (mk)	5.84-5.98 (mk)
3-H ^{cis}	5.22	5.16	5.13	5.19
	5.25	5.26	5.20	5.22
3-H ^{trans}	5.30	5.22	5.28	5.30
	5.33	5.35	5.30	5.33

26a: 1-H, $|J_{\text{AB}}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$;

3-H^{cis}, $|J_{\text{AB}}| = 3.3 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

26b: wie **26a**.

27a: 1-H, $|J_{\text{AB}}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.5 \text{ Hz}$; 3-H^{cis}, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$.

27b: 1-H, $|J_{\text{AB}}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.5 \text{ Hz}$; 3-H^{cis}, $|J_{\text{AB}}| = 3.3 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

^aDie Zuordnung erfolgte anhand der ^1H - ^{13}C -NMR-Korrelation.

Tabelle 6b: ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 26a und 26b sowie 27a und 27b

	<u>26a</u>	<u>26b</u>	<u>27a</u>	<u>27b</u>
C-1	100.02	107.69	98.16	101.66
C-2	77.94	79.20 ^a	68.25 ^a	70.74 ^a
C-3	74.97	77.87 ^a	69.87 ^a	72.98 ^a
C-4	82.64	86.73	70.40	69.81
C-5	69.96	70.05	70.51	73.98
C-6	171.78	171.59	168.69	167.74
Allylgruppe				
C-1	66.23	66.67	66.01	66.13
	69.41	68.28	69.02	70.43
C-2	131.32	131.07	131.55	131.47
	133.44	133.56	133.54	133.67
C-3	118.38	117.71	117.80	118.21
	118.88	118.88	118.75	118.85

^a Die Zuordnung erfolgte durch Vergleich mit Literaturangaben⁶⁴⁾.

Tabelle 7: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 30a und 30b sowie 31a und 31b

	<u>30a</u>	<u>30b</u>	<u>31a</u>	<u>31b</u>
1-H	5.18 (d)	5.08 (s)	5.25 (d)	4.53 (d)
2-H	5.04 (dd)	5.09 (d)	5.16 (dd)	5.23 (dd)
3-H	5.57 (dd)	5.02 (dd)	5.41 (dd)	5.06 (dd)
4-H	4.38 (dd)	4.54 (dd)	5.77 (dd)	5.71 (dd)
5-H	5.26 (d)	5.39 (d)	4.64 (d)	4.29 (d)
COCH_3	2.15 (s)	2.07 (s)	1.96 (s)	1.97 (s)
	2.19 (s)	2.08 (s)	2.04 (s)	2.23 (s)
	2.26 (s)	2.18 (s)	2.05 (s)	2.28 (s)

30a: $J_{1,2} = 4.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 8.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 6.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 3.5 \text{ Hz}$.

30b: $J_{2,3} = 2.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 6.0 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 3.0 \text{ Hz}$.

31a: $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 11.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

31b: $J_{1,2} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

Allylgruppe

1-H	3.90	3.95	4.03	4.12
	4.58-4.70 (mk)	4.58-4.74 (mk)	4.53-4.68 (mk)	4.55-4.69 (mk)
1'-H	4.23	4.19	4.20	4.41
	4.58-4.70 (mk)	4.58-4.74 (mk)	4.53-4.68 (mk)	4.55-4.69 (mk)
2-H	5.79-5.93 (mk)	5.78-5.93 (mk)	5.77-5.89 (mk)	5.78-5.90 (mk)
3-H ^{cis}	5.13	5.16	5.19	5.18
	5.22	5.22	5.23	5.22-5.30 (mk)
3-H ^{trans}	5.24	5.24	5.27	5.22-5.30 (mk)
	5.31	5.31	5.30	5.31

30a: 1-H, $|J_{AB}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$;
3-H^{cis}, $|J_{AB}| = 3.5 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

30b: 1-H, $|J_{AB}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$;
3-H^{cis}, $|J_{AB}| = 3.5 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

31a: 1-H, $|J_{AB}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.2 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.2 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.2 \text{ Hz}$;
3-H^{cis}, $|J_{AB}| = 3.2 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.2 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.2 \text{ Hz}$.

31b: 1-H, $|J_{AB}| = 13.5 \text{ Hz}$, $^3J = 6.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$;
3-H^{cis}, $|J_{AB}| = 3.2 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

Tabelle 8: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 29a und 29b

	<u>29a</u>	<u>29b</u>		<u>29a</u>	<u>29b</u>
1-H	5.41 (d)	4.80 (d)	C-1	100.22	104.10
2-H	4.55 (dd) ^s	4.45 (dd)	C-2	69.84 ^s	71.85 ^s
3-H	4.67 (dd) ^s	4.20 (dd)	C-3	70.93 ^s	74.71 ^{ss}
4-H	4.85 (dd)	4.80 (dd)	C-4	72.05 ^{ss}	71.45 ^s
5-H	4.93 (d)	4.60 (dd)	C-5	72.41 ^{ss}	75.67 ^{ss}
			C-6	170.39	169.80
CO_2CH_3	3.68 (s)	3.68 (s)	CO_2CH_3	51.73	51.71
OH	4.97				
	(s, breit)				
	6.73	5.02			
	(s, breit)	(s, breit)			
	6.68				
	(s, breit)				

29a: $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

29b: $J_{1,2} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

Allylgruppe

1-H	4.15	4.31	C-1	68.96	70.18
1'-H	4.36	4.63			
2-H	5.91-6.01 (m)	5.94-6.04 (m)	C-2	135.07	überlagert
3-H ^{cis}	5.09	5.08	C-3	116.90	116.68
3-H ^{trans}	5.35	5.45			

29a: 1-H, $|J_{AB}| = 13.5 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{cis}, $|J_{AB}| = 3.8 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

29b: 1-H, $|J_{AB}| = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 1'-H, $^3J = 5.0 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{cis}, $|J_{AB}| = 3.8 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$; 3-H^{trans}, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$, $|^4J| = 1.5 \text{ Hz}$.

^s, ^{ss} Die Signale sind eventuell zu vertauschen; die Zuordnung erfolgte durch Vergleich mit den Verbindungen 27a und 27b.

Tabelle 9 ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 33a und 34a

	<u>33a</u>	<u>34a</u>		<u>33a</u>	<u>34a</u>
Einheit E					
			COCH_3	170.86, 170.59,	170.89, 170.71,
				169.39	168.99
			NHCOCH_3	171.69	171.78
1-H	4.79 (d)	4.97 (d)	C-1	102.75	101.70
2-H	3.97 (m)	4.00-4.22 (mk)	C-2	54.52	54.85
3-H	5.16 (dd)	5.27 (dd)	C-3	73.04	72.10
4-H	5.01 (t)	5.00 (t)	C-4	68.43	68.71
5-H	3.73 (m)	3.76 (m)	C-5	71.65	71.78
CH_2 -6	4.10-4.15 (m)	4.00-4.22 (mk)	C-6	62.18	62.18
NHAc	6.70 (d)	6.58 (d)			
NHCOCH_3	1.90 (s)	1.92 (s)	NHCOCH_3	23.18	23.26
COCH_3	2.00, 2.01,	2.00, 2.07 (s)	COCH_3	20.72, 20.57	20.71, 20.61,
	2.05 (s)				20.55

33a, 34a: $J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 11.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}$, $J_{\text{NH},2} = 8.5 \text{ Hz}$.

Einheit F

1-H	5.18 (d)	5.03 (d)	C-1	97.67	97.92
2-H	3.87 (dd)	3.90 (dd)	C-2	78.69	69.81 [*]
3-H	4.08 (m, breit)	4.00-4.22 (mk)	C-3	67.69	79.44
4-H	4.32 (m, breit)	4.38 (dd, breit)	C-4	70.54	67.33 [*]
5-H	4.46 (d)	4.42 (d)	C-5	70.13	70.11
			C-6	169.53	169.34
CO_2CH_3	3.79 (s)	3.78 (s)	CO_2CH_3	52.57	52.49
OH	3.92-4.29	4.00-4.30			

33a: $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.0 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.0 \text{ Hz}$.

34a: $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.0 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

Allylgruppe

1-H	4.04	3.82-3.90	C-1	69.25	69.05
1'-H	4.16	4.00-4.22			
2-H	5.80-5.90 (m)	5.82-5.92 (m)	C-2	133.62	133.28
3-H ^{cis}	5.12	5.18	C-3	117.68	118.25
3-H ^{trans}	5.25	5.29			

Die Allylgruppen-Signale weisen die typischen Kopplungen auf (siehe Tabelle 6, 7, 8).

^{*} Die Signale sind eventuell zu vertauschen.

Tabelle 10: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 36a und 39a und das ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 39a

	<u>36a</u>	<u>39a</u>		<u>39a</u>
Einheit E				
			COCH_3	170.60, 170.40, 169.59 [*]
			NHCOCH_3	170.34
1-H	5.05 (d)	5.11 (d)	C-1	100.66
2-H	3.77 (m)	3.72 (m)	C-2	56.04
3-H	5.29 (m)	5.57 (dd)	C-3	74.21
4-H	5.01 (t)	5.00 (t)	C-4	68.58 ^{##}
5-H	3.78 (m)	3.38 (m)	C-5	71.57 [#]
CH_2 -6	4.10-4.20 (mk)	4.06-4.23 (mk)	C-6	61.55
NHAc	6.27 (s, breit)	5.93 (d)		
NHCCH_3	1.91 (s)	1.89 (s)	NHCCH_3	23.23
COCH_3	2.00, 2.06 (s)	2.06 [*] , 2.00 [*] (s)	COCH_3	20.76 [*] , 20.69 [*]

36a: $J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}$.

39a: $J_{1,2} = 8.2 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}$, $J_{\text{NH},2} = 8.0 \text{ Hz}$.

Einheit F

			COCH_3	167.78
			CONH_2	155.62
1-H	5.20 (d)	5.22 (d)	C-1	97.75
2-H	4.22 (dd)	3.99 (dd)	C-2	77.20
3-H	5.11 (dd) ^{**}	5.18 (dd)	C-3	68.81 ^{##}
4-H	4.75 (m)	5.75 (dd)	C-4	71.15 [#]
5-H	4.56 (d)	4.61 (d)	C-5	69.37
			C-6	169.65 [*]
CO_2CH_3	3.79 (s)	3.71 (s)	CO_2CH_3	52.60
COCH_3		2.09 [*] (s)	COCH_3	20.64 [*]
OH	4.07-4.25			
NH/NH ₂	9.75-10.50	4.95-5.06		

36a, 39a: $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

Allylgruppe

1-H	4.10	4.06-4.23 (mk)	C-1	69.35
1'-H	4.21	4.06-4.23 (mk)		
2-H	5.83-5.94 (m)	5.82-5.94 (m)	C-2	132.17
3-H ^{cis}	5.18	5.19	C-3	118.06
3-H ^{trans}	5.31	5.31		

Die Signale der Allylgruppe weisen die typischen Kopplungen auf (siehe Tabelle 6, 7, 8).

*.##. Die Signale sind eventuell zu vertauschen.

** auffällig scharfes Signal, keine Kopplung mit Hydroxylproton.

Tabelle 11: ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 40a

Einheit E

		COCH_3	170.41, 170.30
			170.16
		NHCOCH_3	170.51
1-H	5.20 (d)	C-1	100.02
2-H	3.67-3.79 (m)	C-2	56.27
3-H	5.59 (dd)	C-3	71.66
4-H	4.95 (t)	C-4	67.96 [*]
5-H	3.31 (m)	C-5	70.97 [*]
CH_2 -6	4.05-4.20 (mk)	C-6	61.96
NHAc	5.76-5.82		
NHCOCH_3	1.85 (s)	NHCOCH_3	23.16
COCH_3	1.97 [*] , 2.03 [*] (s)	COCH_3	20.96 ⁺ , 20.66 ⁺
			20.60 ⁺

$$J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}, J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}, J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}.$$

Einheit F

		COCH_3	162.08
COCH_3	2.07 [*] (s)	COCH_3	20.57 ⁺
1-H	5.31 (d)	C-1	98.51
2-H	3.97 (dd)	C-2	75.56
3-H	5.65 (dd)	C-3	68.84 [*]
4-H	5.91 (d)	C-4	109.24
		C-5	141.15
		C-6	169.56
CO_2CH_3	3.75 (s)	CO_2CH_3	52.46

$$J_{1,2} = 3.0 \text{ Hz}, J_{2,3} = 9.0 \text{ Hz}, J_{3,4} = 2.8 \text{ Hz}.$$

Allylgruppe

1-H	4.10-4.25 (mk)	C-1	69.74
1'-H	4.10-4.25 (mk)		
2-H	5.76-5.88 (m)	C-2	133.17
3-H ^{cis}	5.14	C-3	117.78
3-H ^{trans}	5.28		

Die Signale der Allylgruppe weisen die typischen Kopplungen auf (siehe Tabelle 6, 7, 8).

⁺ Die Signale sind eventuell vertauschbar.

Einheit E

COCH_3	171.68, 171.02, 170.47
NHCOCH_3	172.14
C-1	100.59
C-2	55.05
C-3	74.59
C-4	69.34 [*]
C-5	72.61 ⁺
C-6	62.91
NHCOCH_3	23.32
COCH_3	20.88, 20.71, 20.67

Einheit F

$(\text{CH}_3)_2\text{C}$	110.18
C-1	93.99
C-2	75.59
C-3	71.11 ⁺
C-4	73.23 ⁺
C-5	69.94 [*]
C-6	170.01 ^{**}
CO_2CH_3	52.29 [#]

Einheit H

C-1	169.81 ^{**}
C-2	79.57, $ \text{}^3\text{J}_{\text{C,P}} = 8.0 \text{ Hz}$
C-3	66.37
CO_2CH_3	52.68 [#]

Einheit I

C-1	69.75, $ \text{}^5\text{J}_{\text{C,P}} = 4.5 \text{ Hz}$
C-8	33.09
prim., sek. und tert. C	19.80-42.80

* , # , ** Die Signale sind eventuell zu vertauschen.

Einheit E

		COCH_3	170.98, 170.75,
			170.48
		NHCOCH_3	171.63
1-H	5.72 (d)	C-1	101.51
2-H	4.33 (m)	C-2	55.43
3-H	5.95 (dd)	C-3	73.52
4-H	5.43 (t)	C-4	69.69
5-H	3.89-3.96 (m)	C-5	72.03
6-H	4.40 (m)	C-6	62.47
6'-H	4.55 (m)		
NHAc	9.13 (d)		
NHCOCH_3	1.91 (m)	NHCOCH_3	23.40
COCH_3	1.99, 2.02, 2.06 (m)	COCH_3	20.74 ^a , 20.66 ^a , 20.54 ^a

$J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}$, $J_{\text{NH},2} = 8.5 \text{ Hz}$, $|J_{6,6'}| = 12.0 \text{ Hz}$,
 $J_{5,6} = 2.5 \text{ Hz}$, $J_{5,6'} = 4.3 \text{ Hz}$.

Einheit F

CONH_2	5.05-5.55	CONH_2	157.12
		COCH_3	168.37
COCH_3	2.23 (s)	COCH_3	20.42 ^a
1-H	6.53 (dd)	C-1	95.88, $ ^2J_{\text{C},\text{P}} = 5.9 \text{ Hz}$
2-H	4.66 (überlagert)	C-2	75.47, $ ^3J_{\text{C},\text{P}} = 8.1 \text{ Hz}$
3-H	5.96 (dd)	C-3	68.87
4-H	6.42 (dd)	C-4	71.01
5-H	5.49 (d)	C-5	69.94
		C-6	169.86 ⁺
CO_2CH_3	3.75 ^a (s)	CO_2CH_3	51.87 [#]

$J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{1,\text{P}} = 7.0 \text{ Hz}$, $J_{2,3} = 11.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 1.5 \text{ Hz}$.

Einheit G

$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	3.04 (q)	$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	45.79
$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	1.28 (t)	$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	8.75

Einheit H

		C-1	169.71 ⁺
2-H	4.51 (dd)	C-2	79.58, $ ^3J_{C,P} = 8.0 \text{ Hz}$
3-H	4.60-4.69 (m)	C-3	66.47, $ ^2J_{C,P} = 4.0 \text{ Hz}$
3'-H	4.71-4.79 (m)		
CO ₂ CH ₃	3.68 [*] (s)	CO ₂ CH ₃	52.13 [#]

$J_{2,3} = 4.5 \text{ Hz}$, $J_{2,3'} = 6.0 \text{ Hz}$.

Einheit I

1-H	3.60-3.75 (überlagert)	C-1	69.61
1'-H	3.77-3.86 (m)		
		C-8	32.70
prim. H	0.80-1.00	prim., sek.	
sek., tert. H	1.03-1.88	und tert. C	19.50-45.80

⁺, [#], ^{*} Die Signale sind eventuell zu vertauschen.

Abb.	Abbildung	m	Multiplett (NMR)
absol.	absolut	Me	Methyl
Ac	Acetyl	MHz	Megahertz
AIBN	Azoisobuttersäurenitril	min	Minuten
Ala	Alanin	min.	minütig
All	Allyl	mk	Multiplettkomplex (NMR)
aromat.	aromatisch	MS	Massenspektroskopie
B	geschützte Purin- oder Pyrimidin-Base	ND-SC	Säulenchromatographie unter geringem Druck
Ber.	berechneter Wert	NMR	Kernmagnetische Resonanz
benzyl.	benzylisch	org.	organisch
Bz	Benzoyl	prim.	primär
Bzl	Benzyl	proz.	prozentig
ca.	circa	Pr ⁱ	2-Propyl
COSY	Correlated Spectroscopy (NMR)	q	Quartett (NMR)
d	Dublett (NMR), Tage	R	Alkylrest
a-DAP	1,5-Diamino-pimelinsäure	Raumtemp.	Raumtemperatur
dd	doppeltes Dublett (NMR)	s	Singulett (NMR)
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (NMR)	SC	Säulenchromatographie
dest.	destilliert	Schmp.	Schmelzpunkt
DMAP	Dimethylaminopyridin	Sdp.	Siedepunkt
DMSO	Dimethylsulfoxid	sek.	sekundär
E. coli	Escherichia coli	SIMS	Secondary Ion Mass Spectrometry
Et	Ethyl	stdg.	stündig
FAB	Fast Atom Bombardment (MS)	Staph.	Staphylococcus
FIB	Fast Ion Bombardment (MS)	Strept.	Streptococcus
Gef.	gefundenen Wert	t	Triplett (NMR)
gesätt.	gesättigt	TAI	Trichloracetylisocyanat
Glu	Glutaminsäure	TBAF	Tetra-n-butylammoniumfluorid
Gly	Glycerin	tert.	tertiär
h	Stunden	THF	Tetrahydrofuran
Hz	Hertz	TMS	Trimethylsilyl
IR	Infrarot-Spektroskopie	p-TaOH	para-Toluolsulfonsäure
J	Kopplungskonstante	u. a.	unter anderem
Lit.	Literaturstelle	vgl.	vergleiche
M	Molekulation	wäBr.	wässrige

a.b Die Nummerierung der Verbindungen wurde entsprechend der Konfiguration am anomeren Zentrum mit dem Zusatz a (für α) und b (für β) versehen.

- 1) K. H. Wallhäusser, G. Neesemann, P. Präve und A. Steigler,
Antimicrob. Agents Chemother. 1965, 734.
- 2) G. Huber in F. E. Hahn (Ed.),
Antibiotics, Vol. V/1, S. 135, Springer Verlag,
Berlin 1979.
- 3) J. Scherkenbeck,
Diplomarbeit, Ruhr-Universität, Bochum, 1985.
- 4) P. Welzel, A. Hiltmann, K. Hobert, J. Scherkenbeck,
W. Bankova, M. Kaiser, D. Müller, H. J. Veith,
G. Seibert, G. Huber und D. Böttger,
vorgestellt auf dem 4th European Carbohydrate Symposium
(Eurocarb IV), Darmstadt, 13.-17. Juli 1987.
- 5) Y. van Heijenoort, M. Leduc, H. Singer und J. van
Heijenoort,
J. Gen. Microbiol. 133, 667 (1987)
und dort zitierte Literatur.
- 6) P. Welzel, F.-J. Witteler, D. Müller und W. Riemer,
Angew. Chem. 93, 130 (1981).
- 7) P. Welzel, B. Wietfeld, F. Kunisch, T. Schubert,
K. Hobert, H. Duddeck, D. Müller, G. Huber, J. E. Maggio
und D. H. Williams,
Tetrahedron 39, 1583 (1983).
- 8) S. Takahashi, K. Serita und M. Arai,
Tetrahedron Lett. 24, 499 (1983).
- 9) E. v. Wasielewski, R. Muschawek und E. Schütze,
Antimicrob. Agents Chemother. 1965, 743.

- 10) W. Sambeth, G. Nesemann, F. Bauer und G. Dost,
Ausscheidungs- und Rückstandsuntersuchungen mit
Flavomycin, Flavomycin-Symposium, Rottach-Egern 1969,
S. 133.
- 11) F. Bauer und G. Dost,
Antimicrob. Agents Chemother. 1965, 749.
- 12) J. B. Ward,
Pharmac. Ther. 25, 327 (1984).
- 13) Y. van Heijenoort und J. van Heijenoort,
FEBS Lett. 110, 241 (1980).
Y. van Heijenoort, M. Derrien und J. van Heijenoort,
FEBS Lett. 89, 141 (1978).
- 14) Für eine detailliertere Beschreibung der Wirkungsweise
vgl. Lit.⁵⁾.
- 15) M. Leduc, R. Kasra und J. van Heijenoort,
J. Bacteriol. 152, 26 (1982).
M. Leduc, C. Frehel und J. van Heijenoort,
J. Bacteriol. 161, 627 (1985).
- 16) W. E. Brown, V. Seinerova, W. M. Chan, A. I. Laskin,
P. Linnett und J. L. Strominger,
Ann. N. Y. Acad. Sci. 235, 399 (1974).
- 17) S. Somma, W. Merati und F. Parenti,
Antimicrob. Agents Chemother. 1977, 396.
- 18) P. Welzel, F. Kunisch, F. Kruggel, H. Stein, A. Ponty,
und H. Duddeck,
Carbohydr. Res. 126, C1 (1984).

- 19) P. Welzel, F. Kunisch, F. Kruggel, H. Stein, J. Scherkenbeck, A. Hiltmann, H. Duddeck, D. Müller, J. E. Maggio, H.-W. Fehlhaber, G. Seibert, Y. van Heijenoort und J. van Heijenoort,
Tetrahedron 43, 585 (1987).
- 20) T. Schubert, K. Hobert und P. Welzel,
Tetrahedron 39, 2219 (1983).
- 21) Zur Herstellung von 16:
P. Welzel, F.-J. Witteler und D. Müller,
Tetrahedron Lett. 1976, 1665.
- 22) P. A. Manthorpe und R. Gigg,
Methods Carbohydr. Chem. 8, 305 (1980)
und dort zitierte Literatur.
- 23) B. Baudry, M. Ephritikhine und H. Felkin,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1978, 694.
J. J. Oltvoort, C. A. A. van Boeckel, J. H. de Koning
und J. H. van Boom,
Synthesis 1981, 305.
- 24) H. Kunz und H. Waldmann,
Angew. Chem. 96, 49 (1984).
M. Kloosterman, J. H. van Boom, P. Chatelard,
P. Boullanger und G. Descotes,
Tetrahedron Lett. 26, 5045 (1985).
- 25) T. Ogawa, S. Nakabayashi und T. Kitayima,
Carbohydr. Res. 114, 225 (1983).
- 26a) H. Paulsen,
Angew. Chem. 94, 184 (1982).
- b) H. Paulsen,
Chem. Soc. Rev. 13, 15 (1984).

- c) R. R. Schmidt,
Angew. Chem. 98, 213 (1986).
- d) K. Krohn,
Nachr. Chem. Tech. Lab. 35, 930 (1987).
- 27) M. Kiso und L. Anderson,
Carbohydr. Res. 136, 309 (1985).
- 28) R. U. Lemieux, T. Takeda und B. Y. Chung,
ACS Symposia Ser. 39, 90 (1977).
- 29) T. Ogawa, H. Yamamoto, T. Nukada, T. Kitajima und
M. Sugimoto,
Pure Appl. Chem. 56, 779 (1984)
und dort zitierte Literatur.
- 30) M. Kloosterman, E. Kuyl-Yeheskiely und J. H. van Boom,
Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 104, 291 (1985)
und dort zitierte Literatur.
- 31) J. O. Osby, M. G. Martin und B. Ganem,
Tetrahedron Lett. 25, 2093 (1984).
- 32a) N. T. Thuong und U. Asseline,
Biochimie 67, 673 (1985).
- b) W. Pfeleiderer,
Kontakte (Merck) 1983 (2), 3.
- c) S. A. Narang,
Tetrahedron 39, 3 (1983).
- d) A. Rosenthal, D. Cech und Z. A. Sabarova,
Z. Chem. 23, 317 (1983).
- 33) J. L. Fourrey und D. L. Shire,
Tetrahedron Lett. 22, 729 (1981).
- 34) L. J. McBride und M. H. Caruthers,
Tetrahedron Lett. 24, 245 (1983)

und dort zitierte Literatur.

- 35a) W. Bannwarth und A. Trzeciak,
Helv. Chim. Acta **70**, 175 (1987)
und dort zitierte Literatur.

- b) J. Nielsen, J. E. Marugg, J. H. van Boom, J. Honnens,
M. Taagaard und O. Dahl,
J. Chem. Res. (S) **1986**, 26
und dort zitierte Literatur.

- 36) M. Fujii, H. Nagai, M. Sekine und T. Hata,
J. Am. Chem. Soc. **108**, 3832 (1986).

- 37) P. J. Garegg, I. Lindh, T. Regberg, J. Stawinski,
R. Strömberg und C. Henrichson,
Tetrahedron Lett. **27**, 4051, 4055 (1986).
B. C. Froehler, P. G. Ng und M. D. Matteucci,
Nucleic Acids Res. **14**, 5399 (1986).
M. Sekine, H. Mori und T. Hata,
Tetrahedron Lett. **1979**, 1145.

- 38) Neuere Beispiele siehe u. a.

a) Teichonsäure:

- J. J. Oltvoort, H. Kloosterman, C. A. A. van Boeckel und
J. H. Van Boom,
Carbohydr. Res. **130**, 147 (1984)
und dort zitierte Literatur.

b) Phosphoglycolipide:

- C. A. A. van Boeckel und J. H. van Boom,
Tetrahedron **41**, 4567 (1985)
und dort zitierte Literatur.

c) Hüllantigene:

- P. J. Garegg, R. Johansson, I. Lindh und B. Samuelsson,

- Carbohydr. Res. 150, 285 (1986)
und dort zitierte Literatur.
- 39) M. A. Salam und E. J. Behrman,
Carbohydr. Res. 102, 139 (1982)
und dort zitierte Literatur.
- 40) M. Inage, H. Chaki, S. Kusumoto und T. Shiba,
Tetrahedron Lett. 22, 2281 (1981)
und dort zitierte Literatur.
- 41) R. R. Schmidt, M. Stumpp und J. Michel,
Tetrahedron Lett. 23, 405 (1982).
R. R. Schmidt und M. Stumpp,
Liebigs Ann. Chem. 1984, 680.
- 42) A. Granata und A. S. Perlin,
Carbohydr. Res. 94, 165 (1981).
- 43) K. Ikeda, T. Takahashi, H. Kondo und K. Achiwa
Chem. Pharm. Bull. 35, 1311 (1987)
und dort zitierte Literatur.
- 44a) M. L. Wolfrom und D. E. Fletcher,
J. Am. Chem. Soc. 63, 1050 (1941).
E. W. Putman,
Methods Carbohydr. Chem. 2, 261 (1963).
- b) R. S. Wright und H. G. Khorana,
J. Am. Chem. Soc. 80, 1994 (1958).
- c) M. Kiso, K. Nishihori, A. Hasegawa, H. Okumura und
I. Azuma,
Carbohydr. Res. 95, C5 (1981).
- 45) L. L. Danilov, M. F. Troitzky, N. S. Utkina,
V. N. Shibaev und N. K. Kochetkov,
Carbohydr. Res. 87, 141 (1980)

und dort zitierte Literatur.

- 46) H. A. Nunez, J. V. O'Connor, P. R. Rosevear und
R. Barker,
Can. J. Chem. **59**, 2086 (1981)
und dort zitierte Literatur.
- 47) F. Ramirez und J. F. Marecek,
Synthesis **1985**, 449.
- 48) Om P. Srivastava und O. Hindsgaul,
Carbohydr. Res. **143**, 77 (1985).
Zur Darstellung von Verbindung 12 (Abb. 5) vgl. Lit.^{20).}
- 49) T. Ogawa und A. Seta,
Carbohydr. Res. **110**, C1 (1982).
- 50) P. Westerduin, G. H. Veeneman, J. E. Marugg, G. A. van
der Marel und J. H. van Boom,
Tetrahedron Lett. **27**, 1211 (1986).
- 51) J. P. G. Hermans, E. de Vroom, C. J. J. Elie, G. A. van
der Marel und J. H. van Boom,
Recl. Trav. Chim. Pays-Bas **105**, 510 (1986).
- 52) O. Westphal und H. Holzmann,
Chem. Ber. **75**, 1274 (1942).
- 53) H. Weidmann, P. Stöckl, D. Tartler und H. Hönig,
Carbohydr. Res. **31**, 135 (1973).
- 54) F. Micheel und H. Petersen,
Chem. Ber. **92**, 298 (1959).
- 55) J. W. Gillard und M. Israel,
Tetrahedron Lett. **22**, 513 (1981).
- 56) N. Pravdic, Th. D. Inch und H. G. Fletcher jr.,
J. Org. Chem. **32**, 1815 (1967).
- 57) V. K. Srivastava,

- Carbohydr. Res. 103, 286 (1982).
- 58) S. Morell und K. P. Link,
J. Biolog. Chem. 108, 763 (1935).
- 59) E. F. Jansen und R. Jang,
J. Am. Chem. Soc. 68, 1475 (1946).
- 60) N. W. H. Cheetham und P. Sirimanne,
Carbohydr. Res. 112, 1 (1983).
- 61) H. W. H. Schmidt und H. Neukom,
Helv. Chim. Acta 47, 865 (1964).
Helv. Chim. Acta 49, 510 (1966).
- 62) R. T. Lee und Y. C. Lee,
Carbohydr. Res. 37, 193 (1974).
- 63) M. L. Wolfrom und A. Thompson,
Methods Carbohydr. Chem. 2, 211 (1963).
- 64) B. Matsuhira, A. B. Zanlungo und G. G. S. Dutton,
Carbohydr. Res. 97, 11 (1981).
A. de Bryn und M. Anteunis,
Carbohydr. Res. 47, 311 (1976).
E. Lee, J. O'Callaghan und J. P. O'Reilly,
Carbohydr. Res. 105, 266 (1982).
P. E. Pfeffer, K. M. Valentine und F. W. Parrish,
J. Am. Chem. Soc. 1979, 1265.
P. Welzel, F.-J. Witteler, L. Hermsdorf und W. Riemer,
Tetrahedron 37, 113 (1981).
J. C. Christofides und D. B. Davies,
J. Am. Chem. Soc. 1983, 5099.
J. Reuben,
J. Am. Chem. Soc. 1984, 6180.
R. G. S. Ritchie, N. Cyr, B. Korsch, H. J. Koch und

- A. S. Ferlin,
Can. J. Chem. 53, 1424 (1975).
- 65) O. Th. Schmidt,
Methods Carbohydr. Chem. 2, 318 (1963).
- 66) T. Mukaiyama, Y. Tanabe und M. Shimizu,
Chem. Lett. 1984, 401.
- 67) J. Lehmann,
Chemie d. Kohlenhydrate, Monosaccharide und Derivate,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
- 68) S. B. Tjan, D. J. Poll und T. Doornbos,
Carbohydr. Res. 73, 67 (1979).
- 69) S. David und A. Veyrieres,
Carbohydr. Res. 40, 23 (1975).
J. Alais und A. Veyrieres,
J. Chem. Soc. Perkin I 1981, 377.
- 70) A. Temeriusz, J. Radomski, J. Stepinski und B. Piekarska,
Carbohydr. Res. 142, 146 (1985).
- 71) W. A. Szarek, A. Zamojski, K. N. Tiwari und E. R. Ison,
Tetrahedron Lett. 27, 3827 (1986).
- 72) Z. Samek und M. Budesinsky,
Coll. Czech. Chem. Commun. 44, 558 (1979).
- 73) V. W. Goodlett,
Anal. Chem. 37, 431 (1965).
- 74a) F. Nakatsubo, T. Fukuyama, A. J. Cocuzza und Y. Kishi,
J. Am. Chem. Soc. 99, 8115 (1977).
- b) 'Diphosgen' = Trichlormethylchlorformiat
K. Kurita und Y. Iwakura,
Org. Synth. 59, 195 (1980).
- 75a) A. Kamal, A. B. Rao und P. B. Sattur,

Tetrahedron Lett. 28, 2425 (1987).

- b) A. Kamal und P. B. Sattur,
Heterocycles 26, 1051 (1987).
- 76) A. J. Speziale und L. R. Smith,
J. Org. Chem. 27, 3742 (1962).
- 77) P. E. Butler und W. H. Mueller,
Anal. Chem. 38, 1407 (1966).
- 78) N. Minami, S. D. Ko und Y. Kishi,
J. Am. Chem. Soc. 104, 1109 (1982).
P. Welzel, H.-P. Bulian, A. Maulshagen, D. Müller und
G. Snatzke,
Tetrahedron 40, 3657 (1984).
- 79) P. Kocovsky,
Tetrahedron Lett. 27, 5521 (1986).
- 80) W. Steglich und G. Höfle,
Angew. Chem. 81, 1001 (1969).
- 81) J. Hirsch, P. Kovac, V. Kovacik und V. Mihalov,
Chem. Zvesti 30, 674 (1976).
CA 87, 168306z (1977).
- 82) K. Tajima,
Chem. Lett. 1985, 49.
- 83) C. D. Warren und R. W. Jeanloz,
Carbohydr. Res. 53, 67 (1977).
- 84) E. J. Corey und J. W. Suggs,
J. Org. Chem. 38, 3224 (1973).
- 85) A. B. Foster und W. G. Overend,
Quart. Rev. 11, 61 (1957).
- 86) C. A. A. van Boeckel, J. P. G. Hermans, P. Westerduin,
J. J. Oltvoort, G. A. van der Marel und J. H. van Boom,

Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 102, 438 (1983).

- 87) R. L. Letsinger, J. L. Finnan, G. A. Heavner und
W. B. Lunsford,
J. Am. Chem. Soc. 97, 3278 (1975).
- 88) R. L. Letsinger und W. B. Lunsford,
J. Am. Chem. Soc. 98, 3655 (1976).
- 89a) S. Hamamoto und H. Takaku,
Chem. Lett. 1986, 1401.
- b) R. T. Pon,
Tetrahedron Lett. 28, 3643 (1987)
und dort zitierte Literatur.
- 90) R. L. Letsinger, E. P. Groody, N. Lander und T. Tanaka,
Tetrahedron 40, 137 (1984).
- 91a) S. L. Beaucage,
Tetrahedron Lett. 25, 375 (1984).
- b) G. Hering, R. Stöcklein-Schneiderwind, I. Ugi, T. Pathak,
N. Balgobin und J. Chattopadhyaya,
Nucleosides Nucleotides 4, 169 (1985).
- 92) M. D. Matteucci und M. H. Caruthers,
J. Am. Chem. Soc. 103, 3185 (1981).
- 93) B. H. Dahl, J. Nielsen und O. Dahl,
Nucleic Acids Res. 15, 1729 (1987).
- 94a) Vgl. Lit.^{35a,91a)}.
- b) Vgl. Lit.^{33,95)}.
- 95) R. G. K. Schneiderwind-Stöcklein und I. Ugi,
Z. Naturforsch., Teil B, 39, 968 (1984).
- 96) R. U. Lemieux und H. Driguez,
J. Am. Chem. Soc. 97, 4063 (1975).
- 97a) J. C. Catlin und F. Cramer,

- J. Org. Chem. 38, 245 (1973).
- b) R. W. Adamiak, E. Biala, K. Grzeskowiak, R. Kierzek,
A. Kraszewski, W. T. Markiewicz, J. Stawinski und
M. Wieviorowski,
Nucleic Acids Res. 4, 2321 (1977).
- c) J. Imai und P. F. Torrence,
J. Org. Chem. 46, 4015 (1981).
- 98a) Vitamin B₁₂ und Vitamin B₁₂-Modellverbindungen
R. Scheffold, G. Rytz und L. Walder in
Modern Synthetic Methods (R. Scheffold, Hrsg.), Vol. 3,
S. 355 ff, Verlag Salle und Sauerländer, Frankfurt/Main,
1983.
R. Scheffold und E. Amble,
Angew. Chem. 92, 643 (1980).
- b) Cobalt-(I)-phthalocyanin-Anion
H. A. Kellner, R. G. K. Schneiderwind, H. Eckert und
I. K. Ugi,
Angew. Chem. 93, 581 (1981).
- 99) H. Eckert und I. Ugi,
Liebigs Ann. Chem. 1979, 278.
- 100) R. L. Letsinger, E. P. Groody und T. Tanaka,
J. Am. Chem. Soc. 104, 6805 (1982).
- 101) C. Gosden und D. Fletcher,
J. Organomet. Chem. 186, 401 (1980).
E. Kasafirek,
Tetrahedron Lett. 1972, 2021.
M. F. Semmelhack und G. E. Heinsohn,
J. Am. Chem. Soc. 94, 5139 (1972).
- 102) Y. Hayakawa, M. Uchiyama und R. Noyori,

- Tetrahedron Lett. 27, 4191 (1986)
und dort zitierte Literatur.
- 103) Th. Schubert,
Dissertation, Ruhr-Universität, Bochum 1981.
 - 104) Auflistung in Lit. 35a)
zu Stickstoffdioxid vgl. auch
C. McGuigan,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1986, 533.
 - 105) W. G. Bentrude,
Tetrahedron Lett. 1965, 3543.
T. M. Gajda, A. E. Sopchik und W. G. Bentrude,
Tetrahedron Lett. 22, 4167 (1981).
 - 106) D. Brandes und A. Blaschette,
J. Organomet. Chem. 73, 217 (1974).
 - 107) L. Wozniak, J. Kowalski und J. Chojnowski,
Tetrahedron Lett. 26, 4965 (1985).
K. Tamao, M. Kumada und T. Takahashi,
J. Organomet. Chem. 94, 367 (1975).
 - 108) B. Bressel und A. Blaschette,
Z. Anorg. Allg. Chem. 377, 182 (1970).
 - 109) W. Hahn und L. Metzinger,
Macromol. Chem. 21, 113 (1956).
 - 110) E. Buncel und A. G. Davies,
J. Chem. Soc. 1958, 1550.
 - 111) A. A. Oswald und D. L. Guertin,
J. Org. Chem. 28, 651 (1963).
 - 112) P. G. Cookson, A. G. Davies und N. Fazal,
J. Organomet. Chem. 99, C 31 (1975).
 - 113) E. J. Corey, K. Narasaka und M. Shibasaki,

- J. Am. Chem. Soc. 98, 6417 (1976).
- 114) D. Kritchevsky und M. R. Kirk,
Arch. Biochem. Biophys. 35, 346 (1952).
- 115) J. C. Dittmer und R. L. Lester,
J. Lipid Res. 5, 126 (1964).
- 116) Beilstein, Handbuch der organischen Chemie 11, EII,
4. Aufl., Syst. Nr. 1521, S. 43f, Springer Verlag Berlin,
Heidelberg, Göttingen, 1950.
- 117) L. F. Fieser und M. Fieser in
Reagents for Organic Synthesis, Vol. 1, S. 1292, John
Wiley and Sons, Inc., New York, London, Sidney, 1967.
- 118) C. F. Lane und G. W. Kramer,
Aldrichimica Acta 10, 11 (1977).
- 119) Römpps Chemielexikon,
7. Auflage, 1310 (1973),
Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart.

Heidemarie Hohgardt (geb. Stricker, verheiratet mit Karsten Hohgardt)

geb. am 9. Juli 1959 in Selm

Beruflicher Werdegang

4/1966 - 7/1969	Besuch der Ludgeri-Grundschule in Selm
8/1969 - 6/1975	Besuch der Otto-Hahn-Realschule in Selm
8/1975 - 6/1978	Ausbildung zur Chemielaborantin bei der Schering AG in Bergkamen
8/1978 - 7/1979	Besuch der Hellweg-Berufsschule des Kreises Unna in Unna (Fachoberschule für Technik)
9/1979 - 9/1981	Chemiestudium an der Gesamthochschule Wuppertal
4/1981 und 9/1981	Diplom-Vorprüfungen
10/1981 - 2/1985	Chemiestudium an der Universität Dortmund
1/1984	Diplom-Hauptprüfungen
4/1984 - 10/1984	Anfertigung der Diplomarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. P. Kreher über " N,N-Di(hetarylmethyl)- und N-Benzyl-N-(hetarylmethyl)hydrazine sowie N-Benzyl-N-(hetarylmethyl)hydroxylamine. Synthesen und Reaktionen zur Bildung von N-Diazonium-Ionen"
5/1985 - 7/1987	Anfertigung der vorliegenden Dissertation (Unterbrechung vom 22.4.1986 - 29.7.1986 wegen Mutterschutz)

